

Pr 6103 B

ISSN 0181-1554

# CRYPTOGAMIE

## MYCOLOGIE

TOME 12    Fascicule 3    1991



14 OCT. 1991

LABORATOIRE DE CRYPTOLOGAMIE  
MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE  
12, RUE BUFFON, 75005 PARIS

## SOMMAIRE

A. PARGUEY-LEDUC, M.C. JANEX-FAVRE et C. MONTANT - L'ascocarpe du <i>Tuber melanosporum</i> Vitt. (Truffe noire du Périgord, Discomycètes): structure de la glèbe. II. Les veines stériles. ....	165
P. TORRES y M. HONRUBIA - Dinamica de crecimiento y caracterización de algunos hongos ectomicorrizicos en cultivo .....	183
G. MORENO, R. PÖDER, C. ILLANA and F. ESTEVE- RAVENTÓS - Some interesting agarics and a rare species of <i>Scleroderma</i> presented at the II and III mycological stages of Esplugas de Llobregat (Barcelona, Cataluña) .....	193
S.K.M. HASSAN - Chytrids in Egypt: I - saprophytic species of the Cladochytriaceae from water streams .....	211
S.K.M. HASSAN - Chytrids in Egypt: II - New records of species of Entophlyctidaceae .....	227
Analyses bibliographiques .....	241

## CONTENTS

A. PARGUEY-LEDUC, M.C. JANEX-FAVRE et C. MONTANT - The ascocarp of <i>Tuber melanosporum</i> Vitt. (Black Perigord Truffle, Discomycetes): structure of gleba. II. Sterile veins (In French) .....	165
P. TORRES y M. HONRUBIA - Growth dynamism and characterization of some ectomycorrhizal fungi in culture (in Spanish) .....	183
G. MORENO, R. PÖDER, C. ILLANA and F. ESTEVE- RAVENTÓS - Some interesting agarics and a rare species of <i>Scleroderma</i> presented at the II and III mycological stages of Esplugas de Llobregat (Barcelona, Cataluña) .....	193
S.K.M. HASSAN - Chytrids in Egypt: I - Saprophytic species of the Cladochytriaceae from water streams .....	211
S.K.M. HASSAN - Chytrids in Egypt: II - New records of species of Entophlyctidaceae .....	227
Bibliography .....	241

P. 3' 02 B

# CRYPTOGAMIE

## MYCOLOGIE

TOME 12 Fascicule 3 1991

Ancienne Revue de Mycologie. Dirigée par Roger HEIM



DIRECTEUR SCIENTIFIQUE : Madame J. NICOT  
SECRÉTAIRE DE RÉDACTION : Mme M.-C. BOISSELIER. ÉDITEUR : A.D.A.C.

Publié avec le concours du Muséum National d'Histoire Naturelle

CRYPTOGAMIE, MYCOLOGIE est indexé par: *Biological Abstracts*,  
*Current Contents*, *Current Awareness in Biological Sciences*.

Publications bibliographiques du CDST (Pascal)

Copyright © 1991. CRYPTOLOGAMIE, Mycologie

Bibliothèque Centrale Muséum



3 3001 00226870 3 Source : MNHN, Paris



## L'ASCOCARPE DU *TUBER MELANOSPORUM* VITT. (TRUFFE NOIRE DU PÉRIGORD, DISCOMYCÈTES): STRUCTURE DE LA GLÈBE. II. LES VEINES STÉRILES

A. PARGUEY-LEDUC<sup>(1)</sup>, M.C. JANEX-FAVRE<sup>(1)</sup> et C. MONTANT<sup>(2)</sup>

(1) Laboratoire de Cryptogamie, Université Pierre et Marie Curie (Paris VI), 7 Quai Saint-Bernard - 75252 Paris Cedex 05.

(2) Laboratoire de Cryptogamie, Université Paul Sabatier, 118 Route de Narbonne 31602 Toulouse Cedex.

**RÉSUMÉ** - Les veines stériles de la glèbe du *Tuber melanosporum* Vitt. dérivent de la cavité du jeune ascocarpe apothécioïde. Elles sont constituées d'une palissade de paraphyses portée par une sous-palissade et productrice de filaments stériles anastomosés en réseau. Différents organites propres aux cellules des veines stériles sont décrits (empilements de saccules, enclaves cytoplasmiques, mitochondries notamment).

**ABSTRACT** - Sterile veins of gleba derive from the cavity of the young apothecioid ascocarp. They comprise a palisade of paraphyses supported by an under-palisade and producing a network of sterile filaments. Various cytological peculiarities of sterile cells are reported (especially stacked cisternae, cytoplasmic compartments, mitochondria).

**MOIS CLÉS** : *Tuber*, ascocarpe, paraphyses, ultrastructure.

Afin de compléter l'étude de la glèbe, partie interne de l'ascocarpe du *Tuber melanosporum*, contenue à l'intérieur du péridium et composée de veines fertiles et stériles intriquées, nous présentons nos observations sur les veines stériles; celles relatives aux veines fertiles ont été rapportées dans une récente publication (Parguey-Leduc et al., 1990). Nous décrivons successivement l'origine, l'évolution et la structure des veines stériles et mentionnerons ensuite leurs caractéristiques cytologiques les plus notables.

Les précisions sur le matériel et les méthodes utilisés ayant été indiquées dans la première partie de ce travail, nous rappellerons seulement ici que les observations ont été effectuées en microscopie photonique (écrasements, coupes à la paraffine, coupes semi-fines) et en microscopie électronique à transmission (après double fixation glutaraldéhyde-tétroxyde d'osmium, inclusion dans la résine de Spurr, contraste par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb ou technique de Thiéry, 1967).

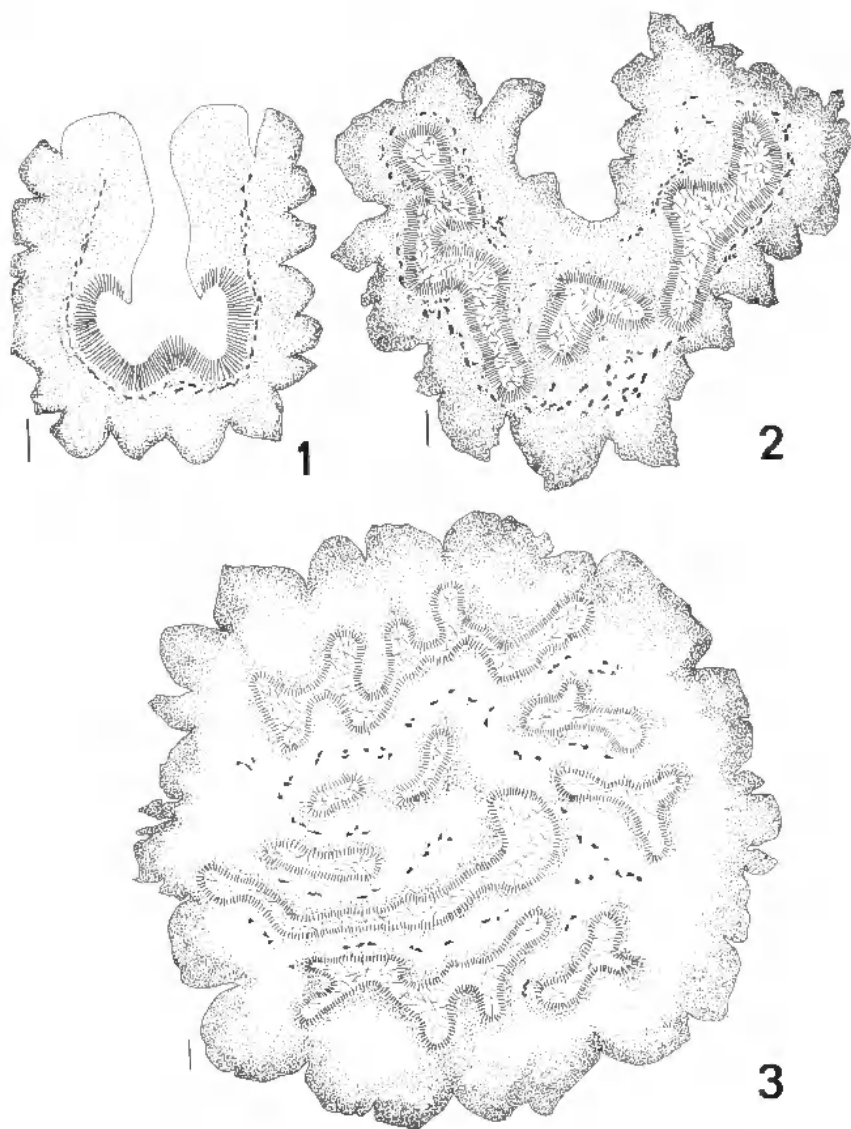


Fig. 1-3. Origine et évolution des veines stériles. 1: cavité unique, ouverte, au stade apothécioidé; 2: individualisation des veines stériles; 3: multiplication des veines stériles. Echelle:  $10\mu\text{m}$  (Fig. 1),  $100\mu\text{m}$  (Fig. 2 et 3).

Fig. 1-3. Origin and evolution of sterile veins. 1: single open cavity at apothecioid stage; 2: individualized sterile veins; 3: more numerous sterile veins. Scale:  $10\mu\text{m}$  (Fig. 1),  $100\mu\text{m}$  (Fig. 2 and 3).

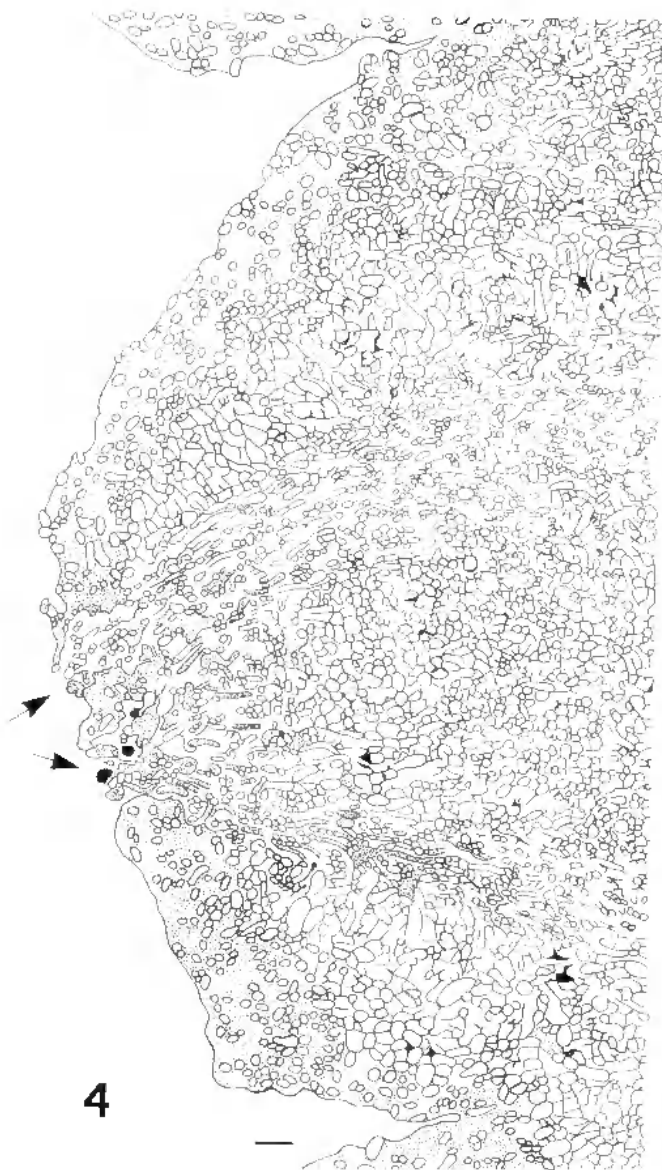


Fig. 4 - Emergence de deux veines stériles (flèches) au centre d'une écaille du périidium. Echelle: 20 $\mu$ m.

Fig. 4 - Opening of two sterile veins (arrows) in the center of a peridial scale. Scale: 20 $\mu$ m.

## I - ORIGINE ET ÉVOLUTION DES VEINES STÉRILES

Les veines stériles de la glèbe dérivent de la cavité du très jeune ascocarpe au stade apothécioïde (Parguey-Leduc et al., 1985, 1989); celle-ci, primitivement ouverte à l'extérieur (Fig. 1) se ferme progressivement du fait que sa marge, fortement redressée, se développe en direction du centre jusqu'à former, par soudure, une voûte continue. D'abord unique, la cavité, désormais close, se fragmente en boyaux sinueux (Fig. 2) qui, sur les coupes d'ascocarpes frais, ont un aspect nacré. Ces boyaux se multiplient au cours de la croissance en volume de l'ascocarpe, devenu globuleux (Fig. 3); ils constituent ainsi les veines stériles, sinueuses et ramifiées, entre lesquelles les veines fertiles, contenant l'appareil sporophytique, puis les asques, sont étroitement moulées. Certaines veines stériles se développent jusqu'aux écailles du périidium, qu'elles percent, et entrent de ce fait en relation avec l'extérieur (Fig. 4). Lorsque l'ascocarpe arrive à maturité les veines stériles sont comprimées par la masse des asques, formés en très grand nombre; elles apparaissent alors sous forme de cordons étroits grisâtres.

## II - STRUCTURE DES VEINES STÉRILES

Au sein de la glèbe d'un jeune ascocarpe globuleux, les veines stériles (*vs*, Fig. 5) s'opposent très nettement, sur les coupes, aux veines fertiles (*vf*); elles apparaissent en effet plus claires et constituées d'éléments plus régulièrement ordonnés. Les veines stériles se composent de trois parties emboîtées qui sont, en partant d'une veine fertile (Fig. 5 et Fig. 6):

- la sous-palissade (*spd*), en continuité avec les filaments de la veine stérile, formée de cellules uninucléées, arrondies en coupe, intimement réunies par un ciment;

- la palissade (*pd*) de paraphyses: régulièrement disposées parallèlement entre elles, celles-ci sont étroitement serrées les unes contre les autres à la base; elles s'individualisent plus nettement dans leur partie moyenne, où certaines se ramifient par bifurcation (Fig. 6 et Fig. 7), ce qui permet la croissance des veines; leurs extrémités libres sont noyées dans un mucilage (*mu*). Les cellules des paraphyses sont généralement binucléées, leurs deux noyaux se localisant souvent au niveau des bifurcations;

- des filaments stériles (*f*), occupant la partie axiale, plus claire, des veines stériles. Produits par la cellule distale de certaines paraphyses, dès le stade apothécioïde, ils sont constitués de cellules étroites et allongées, s'allongent en se ramifiant et s'anastomosant entre eux; il se forme ainsi un réseau lâche (Fig. 8), qui retient l'air entre ses mailles (d'où le nom de veine aërifère, souvent utilisé pour désigner les veines stériles, et l'aspect nacré caractéristique). A la constitution du réseau aërifère peuvent également participer des paraphyses qui s'allongent au-delà de la surface de la palissade en conservant leur calibre, supérieur à celui des autres éléments du réseau.

Après l'ouverture de veines stériles à la surface du périidium sont souvent visibles (Fig. 9A et 9B), entre les extrémités libres des paraphyses et



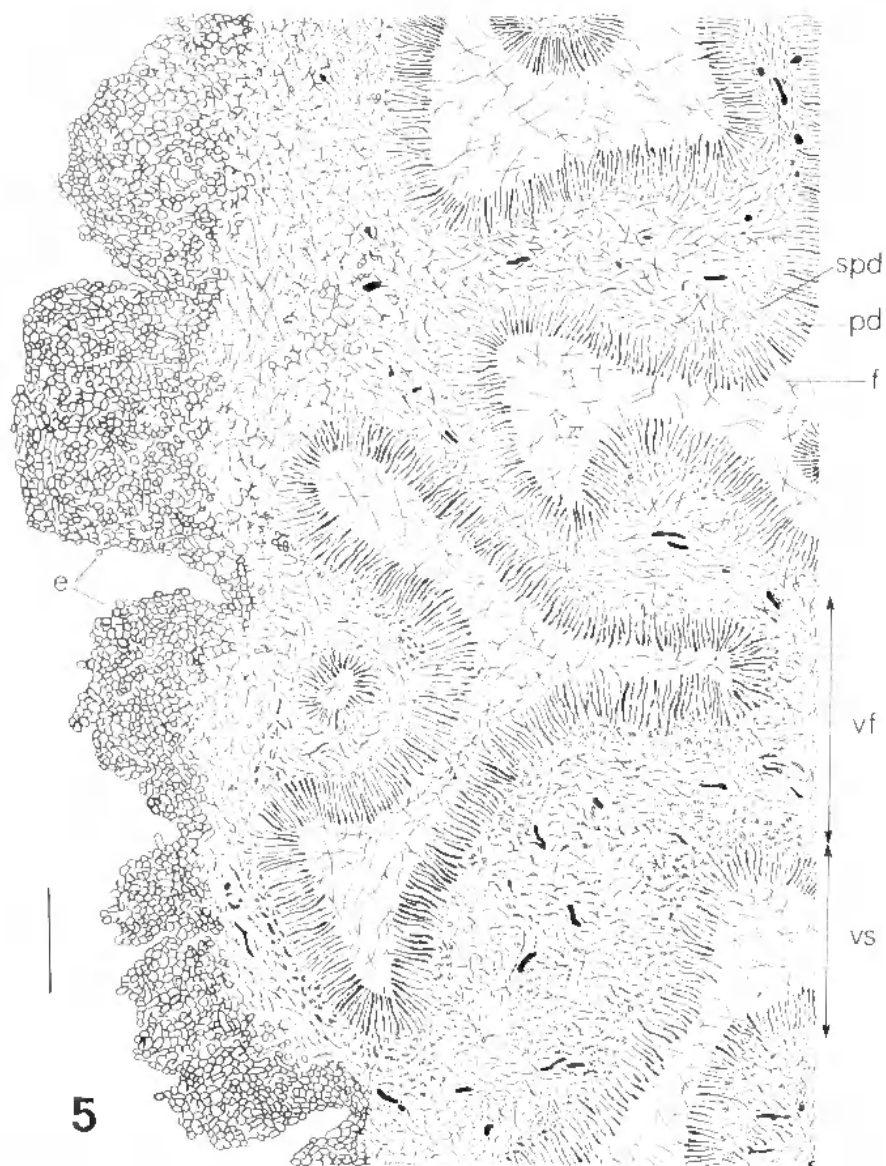


Fig. 5 - Détail d'une portion d'ascocarpe. *e*: écaille du périidium; *f*: réseau de filaments stériles; *pd*: palissade de paraphyses; *spd*: sous-palissade; *vf*: veine fertile; *vs*: veine stérile. Echelle: 100 $\mu$ m.

Fig. 5 - Detail of a portion of an ascocarp. *e*: peridial scale; *f*: sterile filamentous network; *pd*: palisade of paraphyses; *spd*: under-palisade; *vf*: fertile vein; *vs*: sterile vein. Scale: 100 $\mu$ m.

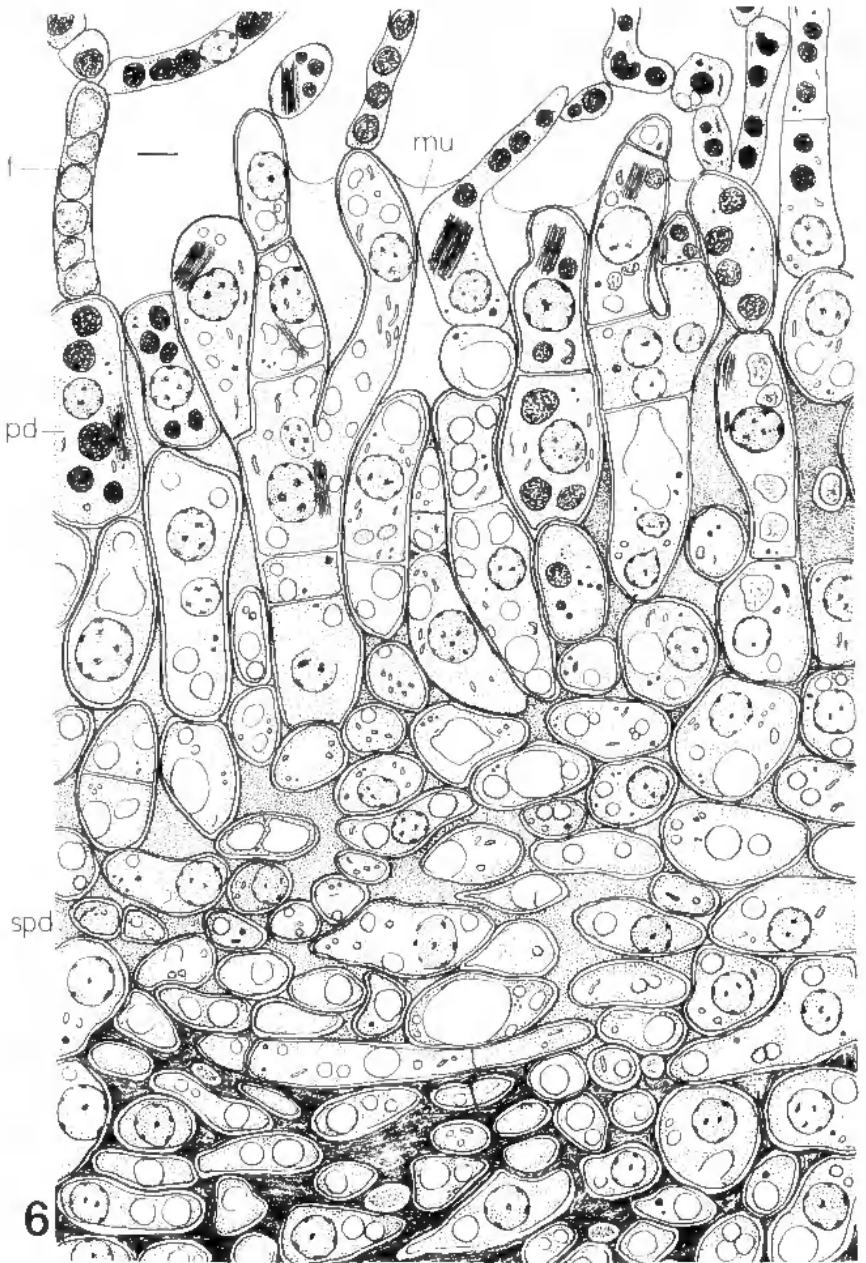


Fig. 6 - Détail d'une veine stérile (dessin réalisé à partir d'une micrographie électronique). *f*: filament stérile du réseau; *mu*: mucilage; *pd*: paraphyse; *spd*: sous-palissade. Echelle: 1 $\mu$ m

Fig. 6 - Detail of a sterile vein (graphs drawn from an electron-microscope plate). *f*: thread of the sterile network; *mu*: mucilage; *pd*: paraphysis; *spd*: underpalisade. Scale: 1 $\mu$ m.



Fig. 7 - Détail d'une veine stérile (microscopie électronique). La flèche épaisse indique un empilement de saccules, la flèche mince le passage d'une mitochondrie par un pore septal, et les étoiles des enclaves cytoplasmiques. Contraste par acétate d'uranyle et citrate de plomb. Echelle:  $2\mu\text{m}$ .

Fig. 7 - Detail of a sterile vein (electron microscope). The thick arrow points to stacked cisternae, the thin arrow indicates a mitochondrion engaged in a septal pore and stars two cytoplasmic compartments. Contrast with uranyl acetate and lead citrate. Scale:  $2\mu\text{m}$ .

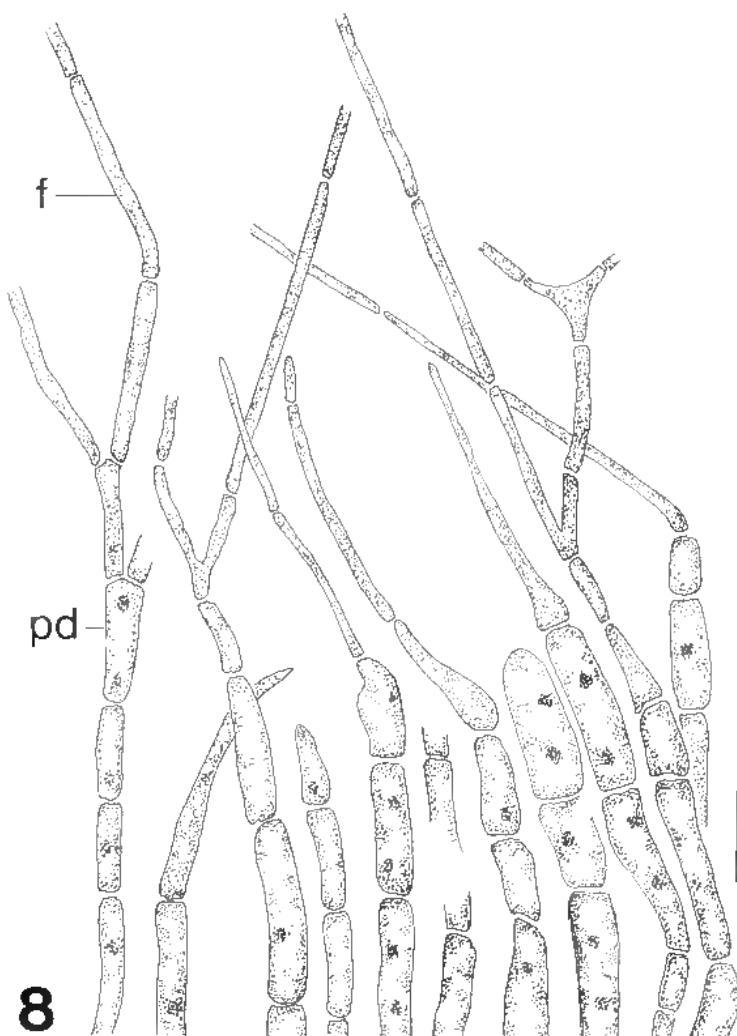
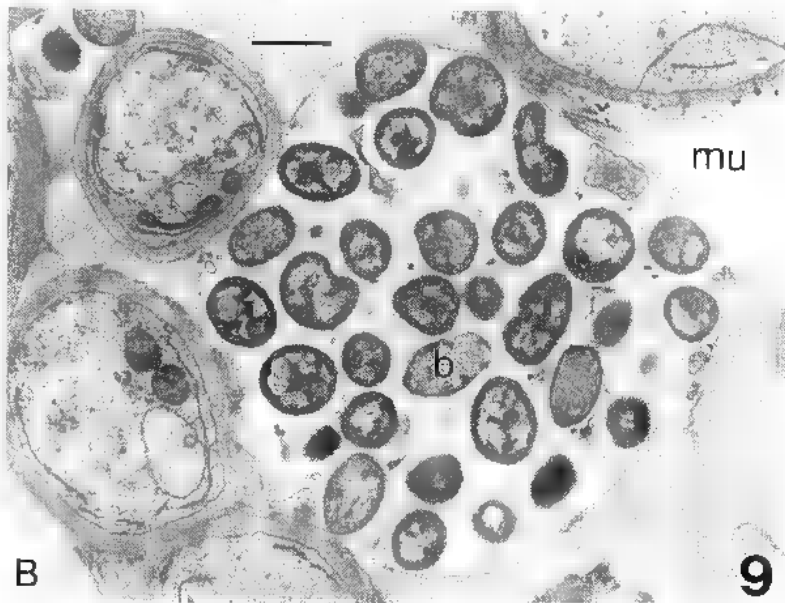
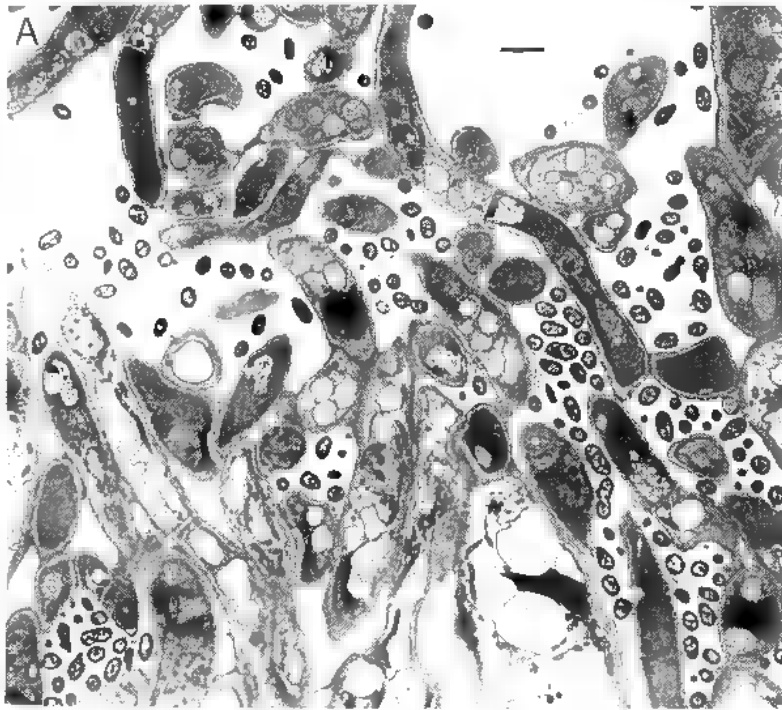


Fig. 8 - Détail de la formation du réseau stérile (*f*) à partir de l'extrémité de paraphyses (*pd*). Echelle: 5 $\mu$ m.

Fig. 8 - Detail of the formation of the sterile network (*f*) from the apical cell of paraphyses (*pd*). Scale: 5 $\mu$ m.

Fig. 9 - Localisation de bactéries dans une veine stérile (microscopie électronique). *b*: bactérie; *mu*: mucilage. Contraste par acétate d'uranyle et citrate de plomb. Echelle: 2 $\mu$ m (Fig. 9A); 1 $\mu$ m (Fig. 9B).

Fig. 9 - Bacteria within a sterile vein (electron microscope). *b*: bacteria; *mu*: mucilage. Contrast with uranyl acetate and lead citrate. Scale: 2 $\mu$ m (Fig. 9A); 1 $\mu$ m (Fig. 9B).



dans les mailles du réseau, des bactéries (*b*) qui ont pénétré dans l'ascocarpe et sont retenues dans des poches creusées dans le mucilage (*mu*).

### III - PARTICULARITÉS ULTRASTRUCTURALES

Les cellules constitutives des veines stériles (dans la sous-palissade comme dans la palissade et dans le réseau) présentent de manière constante des organites ou formations qu'on ne retrouve pas en revanche avec les mêmes caractères dans les autres parties de l'ascocarpe, ni même de façon régulière chez les Ascomycètes. Bien visibles sur la micrographie de la palissade présentée figure 7, ce sont notamment: des empilements de saccules (flèche épaisse) et des enclaves à contenu d'abord clair aux électrons, puis de plus en plus sombre (étoiles) ainsi que divers autres organites et des formations septales.

#### 1) Empilement de saccules et enclaves

Dans les trois couches composant les veines stériles (Fig. 10, A à D), la plupart des cellules contiennent un empilement de saccules aplatis dont la structure évoque soit un dictyosome, soit des nappes de réticulum endoplasmique lisse. Unique dans chaque cellule, l'empilement comporte des saccules en nombre variable (généralement une dizaine à une trentaine, voire plus); régulièrement et étroitement superposés, ces saccules s'écartent seulement légèrement à chaque extrémité, région où ils sont faiblement dilatés en ampoules. De petites vésicules sont parfois visibles en périphérie (Fig. 10B). Saccules et vésicules ne réagissent pas au test de Thiéry (Fig. 10A et 10C), leur contenu apparaît toujours relativement clair.

Ces formations ont une localisation variée dans les cellules, parfois remarquablement proche du noyau (Fig. 10A) ou de la paroi cellulaire (Fig. 10D); dans ce dernier cas, des vésicules sont visibles dans l'espace périlasmique, contribuant vraisemblablement à l'élaboration de la paroi et du ciment intercellulaire.

Une autre fonction peut être attribuée aux saccules endoplasmiques des empilements: il s'agit de la formation d'enclaves cytoplasmiques. Pour cela, un saccule limitant de l'empilement se détache progressivement de celui-ci (Fig. 11B); il s'incurve vers le cytoplasme jusqu'à se refermer sur lui-même en englobant une portion approximativement sphérique de ce dernier. D'abord clair et finement granuleux, le contenu de ces enclaves subit à l'intérieur du saccule limitant une évolution qui se manifeste par une densité croissante aux électrons (de 1 à 3, Fig. 11A et Fig. 11C). Après leur individualisation, les enclaves s'éloignent de l'empilement de saccules générateur et se répartissent dans tout le volume de la cellule.

Les empilements de saccules endoplasmiques et les enclaves qui peuvent en dériver n'ont été observés, chez le *Tuber melanosporum*, que dans les veines stériles. Leur seul aspect ultrastructural ne permet pas de les rattacher de façon certaine au réticulum endoplasmique ou à l'appareil de Golgi dont ils pourraient cependant avoir la fonction sécrétrice (Dargent et al., 1982).

Des formations cytoplasmiques comparables ont été décrites chez d'autres Ascomycètes et leur interprétation diffère selon les auteurs.

Les dictyosomes bien caractérisés, décrits pour la première fois chez un Ascomycète par Moore & Mc Alear (1963), sont des empilements de saccules environnés de vésicules et présentant une polarité nette; celle-ci se manifeste par exemple par une dilatation croissante des saccules de la face interne vers la face externe. Les formations observées chez le *T. melanosporum* sont dépourvues de polarité: leurs saccules sont longs, étroitement superposés et d'épaisseur régulière; peu de vésicules sont visibles à leur périphérie.

Le réticulum endoplasmique comporte, chez les Ascomycètes, des vésicules et saccules habituellement dispersés dans le cytoplasme. Des empilements de ces saccules ont toutefois été observés, par exemple dans des asques (Schantz, 1965; Delay, 1966; Furtado, 1971), des ascospores (Schantz, 1971) et également dans des paraphyses (Schantz, 1979). Dans ce dernier cas, relatif à un Discomycète, l'*Anthracobia maurilabra*, les empilements observés dans l'article terminal des paraphyses ont les mêmes caractères ultrastructuraux que ceux du *T. melanosporum*: empilements épais et denses, saccules longs, tous semblables et régulièrement superposés dans leur partie moyenne mais pouvant, à partir de leur extrémité et sur chacune des faces de l'empilement, s'incurver dans le cytoplasme. Pour Schrantz, ces saccules jouent un rôle dans l'édification des parois, sans être toutefois de véritables dictyosomes. La fonction de compartimentation du cytoplasme, que nous avons décrite chez le *T. melanosporum* n'a pas été, à notre connaissance, signalée chez d'autres Ascomycètes.

## 2) Autres organites

Nous mentionnerons, en raison de leurs caractères particuliers ou de leur abondance (Fig. 12), les mitochondries (*m*) en forme de haltère ou de selle, forme peu courante chez les Ascomycètes (Delay, 1966; Schrantz, 1971; Campbell, 1973), les lomasomes (*lo*) et des vacuoles (*v*) à contenu figuré.

## 3) Les septums

Ils sont perforés en leur centre et toujours accompagnés de corps de Woronin, totalement opaques aux électrons et réactifs au test de Thiéry. Leur pore peut demeurer ouvert, permettant ainsi le transfert de divers organites (noyau; mitochondrie - Fig. 7, flèche mince; corps de Woronin - Fig. 13A) d'une cellule vers sa voisine. Il peut également être obturé par une formation dense aux électrons, après contraste classique ou test de Thiéry; celle-ci est tantôt lenticulaire (Fig. 13B), tantôt formée de deux parties symétriques tronconiques appliquées l'une contre l'autre par leur plus petite face (Fig. 13C).

Dans une étude minutieuse des septums des Pézizales, Curry & Kimbrough (1983) ont distingué, pour les cellules stériles des Ascomycètes, deux types septaux: le type *Neurospora*, à bouchon opaque aux électrons formé de deux parties symétriques, et le type *Peziza*, où une structure lamellaire est présente dans le pore. Ce second type semble caractériser les

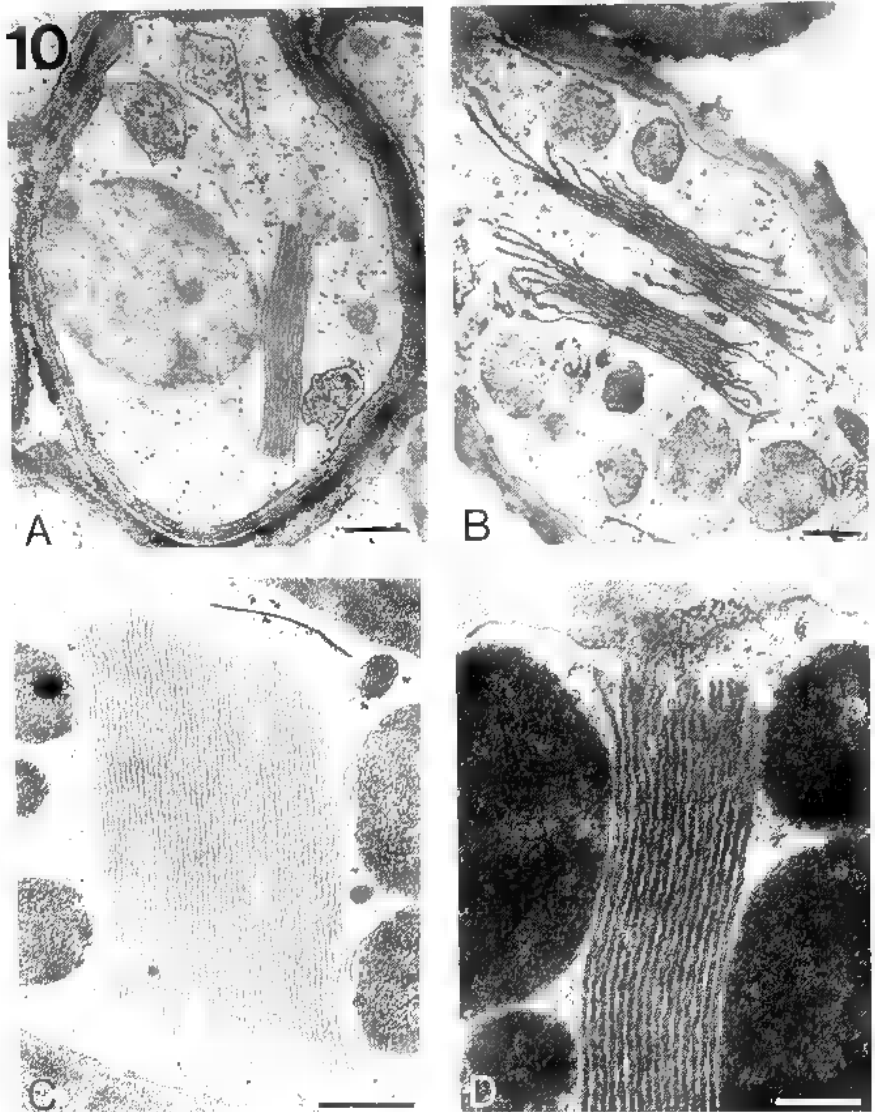


Fig. 10 - Détail de cellules des veines stériles montrant les empilements de saccules (microscopie électronique). A: cellule de la sous-palisade; B: cellule de paraphyse; C et D: cellules du réseau. Technique de Thiéry: A et C; contraste par acétate d'uranyle et citrate de plomb: B et D. Echelle: 0,5 $\mu$ m (Fig. 10 A, B et C); 0,25 $\mu$ m (Fig. 10 D).

Fig. 10 - Detail of cells in sterile veins showing stacked cisternae (electron microscope). A: cell of the under-palisade; B: cell of paraphysis; C and D: cells of the network. Thiéry's test (A and C); contrast with uranyl acetate and lead citrate (B and D). Scale: 0.5 $\mu$ m (Fig. 10A, B and C); 0.25 $\mu$ m (Fig. 10 D).

Fig. 11 - Détail de paraphyses montrant les enclaves cytoplasmiques (microscopie électronique). A: paraphyses, de 1 à 3: évolution des enclaves; B: les saccules limitant l'empilement s'en détachent pour former une jeune enclave; C: enclaves au stade final. Contraste par acétate d'uranyle et citrate de plomb. Echelle: 2 $\mu$ m (Fig. 11A); 0,5 $\mu$ m (Fig. 11B); 1 $\mu$ m: (Fig. 11C).



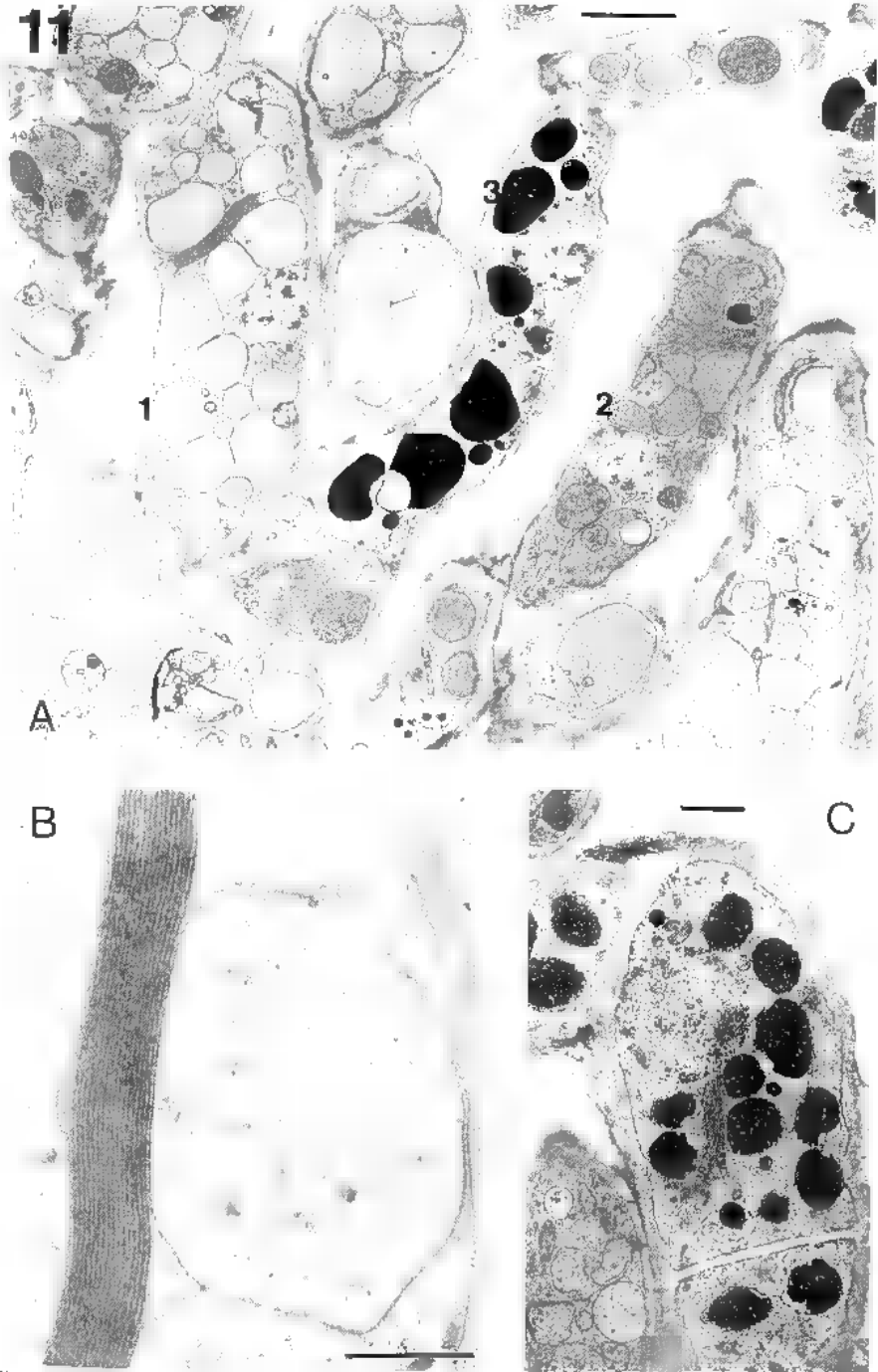


Fig. 11 - Detail of paraphyses showing cytoplasmic compartments (electron microscope). A: paraphyses, from 1 to 3: evolution of compartments; B: limiting cisternae of the stack detach to delimit a young compartment; C: compartment at final stage. Contrast with uranyl acetate and lead citrate. Scale:  $2\mu\text{m}$  (Fig. 11A);  $0.5\mu\text{m}$  (Fig. 11B);  $1\mu\text{m}$  (Fig. 11C).

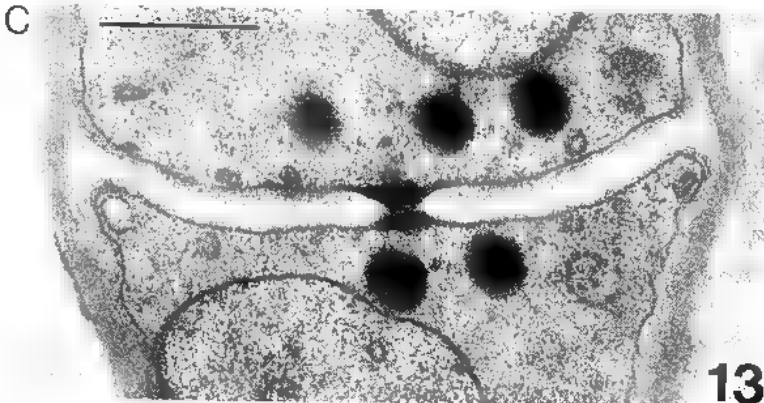
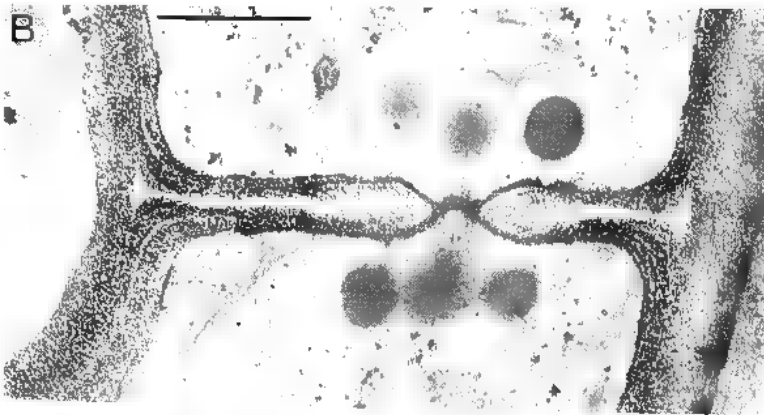
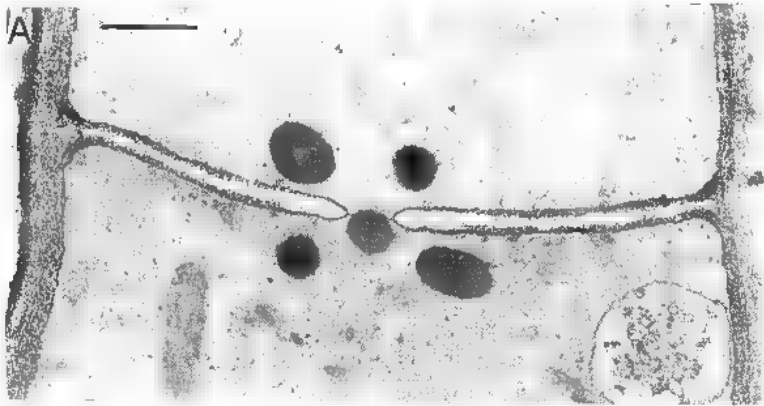


Fig. 12 - Détail de paraphyses montrant divers organites (microscopie électronique). *lo*: lomasome; *m*: mitochondrie; *v*: vacuole. Contraste par acétate d'uranyle et citrate de plomb. Echelle: 1 $\mu$ m.

Fig. 12 - Detail of paraphyses showing various organelles (electron microscope). *lo*: lomasome; *m*: mitochondrion; *v*: vacuole. Contrast with uranyl acetate and lead citrate. Scale: 1 $\mu$ m.

Fig. 13 - Détail de septums de paraphyses (microscopie électronique). A: pore ouvert; B et C: pores obturés par des formations denses aux électrons. Contraste par acétate d'uranyle et citrate de plomb: C; technique de Thiéry: A et B. Echelle: 0,5 $\mu$ m.

Fig. 13 - Detail of septal structures in paraphyses (electron microscope). A: open pore; C and D: pores plugged by electron-opaque bodies. Contrast with uranyl acetate and lead citrate: C; Thiéry's test: A and B. Scale: 0.5 $\mu$ m.



13

Pézizales (Kimbrough & Curry, 1985, 1986a et b), tandis que le premier serait fondamentalement propre aux Pyrénomycètes et Deutéromycètes (Curry & Kimbrough, 1983).

En ce qui concerne le *T. melanosporum*, les septums de ses hyphes stériles, lorsqu'ils ne demeurent pas ouverts permettant le passage d'organites entre deux cellules voisines, se rattachent au type *Neurospora*; il en est de même de ceux du *Tuber magnatum*, selon les micrographies de Scannerini (1968). En revanche, chez une autre Tubérale, du genre *Terfezia*, nous avons observé des septums du type *Peziiza* (Janex-Favre et al., 1988). Ainsi, la corrélation entre type septal des éléments stériles et position systématique, établie par Curry et Kimbrough pour les Pézizales, ne semble pas pouvoir être confirmée chez les Tubérales.

### CONCLUSION

Comme nous l'avons déjà fait remarquer dans la première partie de ce travail, une des caractéristiques essentielles de l'ascocarpe du *T. melanosporum* réside dans la dissociation, au sein de la glèbe, des éléments fertiles et stériles qui, de ce fait, ne constituent pas un hyménium, comme chez les autres Eu-Ascomycètes. En effet, l'appareil sporophytique et les asques sont localisés dans les veines fertiles, tandis que les paraphyses tapissent la cavité des veines stériles.

Une autre particularité notable du *T. melanosporum* concerne les paraphyses. Selon la règle, celles-ci sont disposées parallèlement entre elles, en palissade, mais au lieu d'être libres, leurs extrémités produisent des filaments réunis en un réseau; ce dernier n'a pas d'équivalent chez les autres Eu-Ascomycètes: son mode de formation exclut en effet qu'on le rattache au réseau paraphysoïde ou aux pseudo-paraphyses qui peuvent être présents dans la cavité d'un ascocarpe classique (Chadefaud, 1960, 1982).

Enfin, au point de vue cytologique, les différentes catégories de cellules des veines stériles montrent, à l'échelle ultrastructurale, des caractères originaux, en particulier la présence d'empilements de saccules dont la nature exacte est difficile à établir. Il semble toutefois que ces formations puissent être rattachées plutôt au système du réticulum endoplasmique qu'à l'appareil de Golgi, du fait du grand nombre de saccules constitutif, de la régularité de leur disposition, de leur longueur et de l'absence de réactivité de leurs membranes au test de Thiéry.

Ces nouvelles observations confortent l'idée, déjà plusieurs fois exprimée, que le *T. melanosporum*, ainsi probablement que l'ensemble du genre *Tuber*, doit être maintenu au sein des Discomycètes, dans un ordre distinct, celui des Tubérales. Cette position, rappelons-le, se fonde sur des arguments de divers ordres: structure et développement de l'ascocarpe (Parguey-Leduc et al., 1985, 1987a, 1989), particularités des asques (Janex-Favre & Parguey-Leduc, 1990), de l'ascosporogénèse et des ascospores (Parguey-Leduc et al., 1987b).

**Remerciements:**

Nous remercions B. Darchen (Station biologique des Eyzies), R. Gleize (Valréas) et M. Kulifaj (Université Paul Sabatier de Toulouse) qui nous ont aimablement procuré des échantillons de *T. melanosporum*, ainsi que M. Avnaim, J. Bidoux, C. Fournigault et N. Jampsin pour leur précieuse et amicale collaboration technique.

Avec le concours financier du Conseil Régional de Midi-Pyrénées (décision n° 86.005325/déc) auquel nous exprimons également nos remerciements.

**BIBLIOGRAPHIE**

- CAMPBELL R., 1973 - Ultrastructure of Asci, Ascospores, and Spore Release in *Lophodermella sulcigena* (Rostr.) v. Höhn. *Protoplasma* 78: 69-80.
- CHADEFAUD M., 1960 - Les végétaux non vasculaires (Cryptogamie). In: M. Chadeffaud & L. Emberger, *Traité de Botanique Systématique*. Tome I. Paris, Masson, XV + 1018p., 713 fig.
- CHADEFAUD M., 1982 - Les principaux types d'ascocarpes, leur organisation et leur évolution. *Cryptogamie. Mycol.* 3: 1-9; 103-144; 199-235.
- CURRY K.J. and KIMBROUGH J.W., 1983 - Septal structures in apothecial tissues of the Pezizaceae (Pezizales, Ascomycetes). *Mycologia* 75: 781-794.
- DARGENT R., TOUZE-SOULET J.M., RAMI J. and MONTANT C., 1982 - Cytochemical characterization of Golgi apparatus in some filamentous Fungi. *Exp. Mycol.* 6: 101-114.
- DELAY C., 1966 - Etude de l'infrastructure de l'asque d'*Ascobolus immersus* Pers. pendant la maturation des spores. *Ann. Sci. Nat., Bot. Biol. Vég.* 12ème sér., 7: 361-420.
- FURTADO J.S., 1971 - The septal pore and other ultrastructural features of the Pyrenomycete *Sordaria fimicola*. *Mycologia* 63: 104-113.
- JANEX-FAVRE M.C., PARGUEY-LEDUC A. et RIOUSSET L., 1988 - L'ascocarpe hypogé d'une Terfez française (*Terfezia leptoderma* Tul., Tubérales, Discomycètes). *Bull. Soc. Mycol. France* 104: 145-178.
- JANEX-FAVRE M.C. et PARGUEY-LEDUC A., 1990 - Les asques des *Tuber* (Discomycètes, Tubérales): particularités morphologiques et structurales. *Atti del Secondo Congresso Internazionale sul Tartufo* (Spoleto, 24/27 Novembre 1988): 111-120.
- KIMBROUGH J.W. and CURRY K.J., 1985 - Septal ultrastructure in the Ascobolaceae (Pezizales, Discomycetes). *Mycologia* 77: 219-229.
- KIMBROUGH J.W. and CURRY K.J., 1986a - Septal structures in apothecial tissues of the tribe Aleuriae in the Pyrenomataceae (Pezizales, Ascomycetes). *Mycologia* 78: 407-417.
- KIMBROUGH J.W. and CURRY K.J., 1986b - Septal structures in apothecial tissues of taxa in the tribes Scutellinieae and Sowerbyelleae (Pyrenomataceae, Pezizales, Ascomycetes). *Mycologia* 78: 735-743.
- MOORE R.T. and Mc ALEAR J.M., 1963 - Fine structure of Mycota. 4. The occurrence of the Golgi dictyosome in the Fungus *Neobulgaria pura* (Fr.) Petrak. *J. Cell Biol.* 16: 131-141.
- PARGUEY-LEDUC A., MONTANT C. et KULIFAJ M., 1985 - Le stade apothécioïde de l'ascocarpe du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord). *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.*, sér. III, 301: 143-145.

- PARGUEY-LEDUC A., MONTANT C. et KULIFAJ M., 1987a - Morphologie et structure de l'ascocarpe adulte du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord, Discomycètes). *Cryptogamie, Mycol.* 8: 173-202.
- PARGUEY-LEDUC A., JANEX-FAVRE M.C. et MONTANT C., 1987b - Formation et évolution des ascospores de *Tuber melanosporum* (Truffe noire du Périgord, Discomycètes). *Canad. J. Bot.* 65: 1491-1503.
- PARGUEY-LEDUC A., JANEX-FAVRE M.C., MONTANT C. et KULIFAJ M., 1989 - Ontogénie et structure de l'ascocarpe du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord, Discomycètes). *Bull. Soc. Mycol. France* 105: 227-246.
- PARGUEY-LEDUC A., JANEX-FAVRE M.C. et MONTANT C., 1990 - L'ascocarpe du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord, Discomycètes): Structure de la glèbe. I. Les veines fertiles. Atti del Secondo Congresso Internazionale sul Tartufo (Spoleto, 24-27 Novembre 1988): 101-109.
- SCANNERINI S., 1968 - Setti con "corpi di Woronin" in "*Tuber magnatum*" Pico. *Allionia* 14: 63-76.
- SCHRANTZ J.P., 1965 - Etude au microscope électronique de la localisation des pigments caroténoïdes chez un Discomycète: *Ciliaria hirta* (Schum.) Boudier. *Rev. Cytol. Biol. Vég.* 28: 31-34.
- SCHRANTZ J.P., 1971 - Etude cytologique en microscopie optique et électronique de quelques Ascomycètes. III. Le cytoplasme. *Rev. Cytol. Biol. Vég.* 34: 1-48.
- SCHRANTZ J.P., 1979 - Cytochimie et ultrastructure des parois mélanisées de *Anthracobia maurilabra* (Cooke) Boud. (Discomycète) naturel et en culture. *Rev. Cytol. Biol. Vég., Bot.* 2: 309-327.
- THIERY J.P., 1967 - Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. *J. Microscop.* 6: 987-1018.

## DINAMICA DE CRECIMIENTO Y CARACTERIZACION DE ALGUNOS HONGOS ECTOMICORRICICOS EN CULTIVO\*

P. TORRES y M. HONRUBIA

Departamento de Biología Vegetal (Botánica).  
Facultad de Biología. Universidad de Murcia.  
30071, Murcia, España.

RESUMEN - Se describen las características en cultivo de *Suillus collinitus* (Fr.) O.Kuntze, *S. granulatus* (L.:Fr.) O.Kuntze, *Rhizopogon roseolus* (Corda) Th.M.Fr., *R. luteolus* Fr., *Amanita muscaria* (L.:Fr.) Hooker y *Lactarius deliciosus* L.:Fr., potencialmente micorrícicos con *Pinus halepensis* Miller. Los medios utilizados son: MMN, MMN( + glucosa), PDA, Raper, Hagem y MEA 2%. Todos ellos considerando un rango de pH entre 5.5 y 7.5. Se comentan los medios y pH donde cada una de las especies tratadas ha manifestado un crecimiento mas vigoroso.

RÉSUMÉ - Description des caractéristiques culturales de *Suillus collinitus* (Fr.) O. Kuntze, *S. granulatus* (L.:Fr.) O. Kuntze, *Rhizopogon roseolus* (Corda) Th. M. Fr., *R. luteolus* Fr., *Amanita muscaria* (L.:Fr.) Hooker et *Lactarius deliciosus* L.:Fr., mycorrhiziens potentiels de *Pinus halepensis* Miller. Les milieux utilisés sont: MMN, MMN( + glucose), PDA, Raper, Hagem et MEA 2%, tous dans un éventail de pH entre 5.5 et 7.5. Commentaires sur les milieux et les pH qui ont donné pour chaque espèce la croissance la plus vigoureuse.

### INTRODUCCION

Uno de los principales requerimientos para afrontar trabajos sobre ectomicorrizas es disponer de buenas colecciones de cultivo de los hongos que forman tales asociaciones biotrófico-mutualistas.

El cultivo *in vitro* de estos hongos, en su fase vegetativa, es realmente sencillo. Sin embargo, para realizar inoculaciones miceliales sobre las plantas objeto de estudio, se precisa disponer de una gran cantidad de inóculo (micelio), que además debe ser vigoroso en su crecimiento (Mikola, 1973; Trappe, 1977). Por consiguiente, resulta imprescindible optimizar el cultivo *in vitro* y tener un buen conocimiento de su comportamiento, en tales condiciones, de aquellas especies fúngicas con las que se pretende trabajar.

\* Este trabajo forma parte del proyecto de investigación, n° A-12, contratado en el ámbito del Proyecto LUCDEME entre el ICONA del Ministerio de Agricultura español y la Universidad de Murcia.

Esta experiencia se planteó como paso previo y básico para la producción a gran escala de inóculo miceliar, de hongos potencialmente ectomicorrícicos de *Pinus halepensis* Miller.

La elección de esta conífera como elemento base de trabajo se debe a su importancia e interés en los programas de reforestación y/o aforestación en las zonas xéricas del mediterráneo occidental.

Las 6 especies fúngicas seleccionadas lo fueron por su potencialidad micorrícica con el elemento vascular utilizado, basándonos en la propia experiencia y en los datos bibliográficos existentes. En este sentido cabe resaltar la precariedad de información habida, referente a los hongos constatados como micorrícicos de pino carrasco.

Wahl (1954) describe la asociación simbiótica entre *Pinus halepensis* y *Suillus granulatus*. Trappe (1962) recoge estos datos y cita *Suillus granulatus* como único simbionte de *P. halepensis*, mientras que a *Rhizopogon roseolus*, *R. luteolus*, *Lactarius deliciosus* y *Amanita muscaria* los refiere ligados a diversas especies de pinos, pero no a esta en concreto. Respecto a *Suillus collinitus*, última de las especies aquí tratadas, no se ha comprobado *in vitro* su asociación simbiótica con planta alguna, aunque, Chevalier & Detolle (1984) describen la micorrización artificial (en macetas) de *Suillus collinitus* con *Pinus halepensis*.

El objetivo principal de nuestro trabajo fue conocer las respuestas de crecimiento de los seis hongos mencionados, frente a una diversidad de medios de cultivo, dentro de un rango de pH preestablecido. Esto nos permitirá decantarnos *a posteriori* por uno de esos medios y pH, a fin de obtener la mayor cantidad de inóculo posible, en un espacio de tiempo determinado. También alcanzaremos a conocer la tasa de crecimiento miceliar, lo que nos permite saber cual es el momento idóneo de transferencia del micelio, para intentar sintetizar *in vitro* la micorriza de cualquiera de estos hongos con plántulas de *P. halepensis*.

## MATERIAL Y METODOS

### Localidades de procedencia de las cepas fúngicas

A continuación se relacionan las especies fúngicas estudiadas, localidades de origen, vegetación actual de las zonas, fecha de recogida del material, número de referencia del cultivo y número del registro del material testigo depositado en el herbario MUB de la Universidad de Murcia.

	Localidad	UTM	Vegetación actual	Nº registro Herbario MUB
<i>Suillus collinitus</i>	El Valle (Murcia)	XG 6497	<i>Pinus halepensis</i>	MH 502
<i>Suillus granulatus</i>	Riopar (Albacete)	WH 4959	<i>Pinus pinaster</i>	MH 506
<i>Rhizopogon roseolus</i>	El Valle (Murcia)	XG 6497	<i>Pinus halepensis</i>	MH 504
<i>Rhizopogon luteolus</i>	Riopar (Albacete)	WH 4855	<i>Pinus nigra</i>	MH 505
<i>Amanita muscaria</i>	Riopar (Albacete)	WH 4959	<i>Pinus pinaster</i>	MH 509
<i>Lactarius deliciosus</i>	Riopar (Albacete)	WH 4959	<i>Pinus pinaster</i>	MH 508



### Aislamientos

Se realizaron a partir de esporocarpos jóvenes. En el caso de hongos agaricoideos se utilizaron tejidos próximos al subhimenio, mientras que de los hipogeos se obtuvieron tejidos de la parte central de la gleba.

Los trozos de tejido extraídos se sembraron inicialmente en MMN inclinado y fueron incubados en condiciones de laboratorio. El micelio formado se transfirió a placas con el mismo medio. Después de cuatro semanas de incubación, los micelios resultantes se repicaron definitivamente a nuevas placas con los medios ensayados.

### Medios de cultivo ensayados y rango de pH

Hagem: Modess (1941), Raper: Raper & Raper (1972), MMN: Marx (1969), PDA: Lacy & Bridgmon (1962), MMN (modificado: + 10g. de glucosa), MEA 2%.

Cada uno de los medios se preparó a cinco pH diferentes ( 5.5; 6.0; 6.5; 7.0 y 7.5), ajustado con CIH y NaOH.

### Diseño de la experiencia

Para cada uno de los medios y correspondientes pH se dispusieron sendas colecciones de placas, de 10 réplicas cada una.

Una vez sembrados los micelios, la mitad de las placas de cada colección fue sometida a un choque térmico de 4°C durante 24 horas.

Posteriormente, todas las placas se incubaron a 24°C, durante 60 días.

Periódicamente se estudiaron las características culturales (descripción de la colonia, velocidad de crecimiento, etc) de cada una de las colecciones de placas, conforme a la terminología indicada por Chu-Chou & Grace (1984).

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Caractéres de cultivo

En la Tabla I se recogen las características culturales de las 6 especies fúngicas estudiadas.

Los dos *Suillus* responden a patrones culturales similares. Sus micelios presentan coloraciones parecidas. Suelen producir cordones miceliares, especialmente en medios ricos en azúcares (MMN + glucosa y PDA); si bien *Suillus collinitus* desarrolla este tipo de estructura en la casi totalidad de los medios, salvo en Raper y MEA 2%.

El máximo crecimiento de *S. collinitus*, a los 60 días de incubación (8.5cm) ocurrió en medio PDA (Fig.1E), medio no excesivamente utilizado para hongos ectotróficos. Este hecho se ha repetido en alguno de los otros cinco hongos estudiados.

	Hagem	MEA 2%	MMN	MMN (+G)	PDA	Rapar
A	blanco	blanco	blanco	blanco	blanco	blanco
B	pardo claro con tintas verdes	crema	crema	crema	pardo	anaranjado
C	pardo amarillento	pardo rojizo	pardo amarillento	pardo amarillento	pardo rojizo	pardo rosado
D	pardo rojizo	blanco con manchas pardas	blanco con manchas pardas	pardo rojizo	blanco con centro pardo rojizo	pardo claro
E	pardo oscuro	ocre	pardo claro	pardo rojizo	pardo rojizo	pardo amarillento
F	pardo claro con tintas rosados	pardo rojizo	pardo rojizo	pardo rojizo	pardo rojizo	pardo amarillento
A	regular/blanco	irregular/blanco	lobulado/blanco	regular/blanco	regular/blanco	regular/blanco
B	regular/crema	regular/crema	irregular/crema	lobulado/crema	regular/pardo	regular/crema
C	lobulado/crema	lobulado/pardo	lobulado/crema	lobulado/crema	lobulado/pardo-rojizo	lobulado/gris
D	lobulado/pardo-rojizo	lobulado/blanco	lobulado/blanco	lobulado/blanco	lobulado/blanco	lobulado/pardo-claro
E	irregular/crema	regular/ocre	irregular/crema	irregular/pardo	irregular/pardo-rojizo	regular/pardo
F	lobulado/crema	regular/pardo-rojizo	regular/pardo-rojizo	lobulado/crema	regular/pardo-rojizo	regular/blanco
A	crema	crema	crema	crema	pardo claro	crema
B	crema	crema	crema	crema	pardo claro	pardo claro
C	pardo amarillento	pardo rojizo	pardo amarillento	pardo amarillento	pardo rojizo	pardo rojizo
D	pardo rojizo	pardo rojizo	pardo rojizo	pardo oscuro	pardo rojizo	pardo oscuro
E	pardo oscuro	ocre	pardo oscuro	pardo oscuro	pardo rojizo	pardo oscuro
F	crema	pardo rojizo	pardo rojizo	pardo rojizo	pardo rojizo	pardo amarillento

Color del micelio

Forma y color del margen

Color del reverso

	Hagam	MEA 2%	MMN	MMN(+G)	PDA	Raper
A	no	no	no	no	no	no
B	no	no	no	no	no	no
C	baja	no	no	baja	elevada	elevada
D	baja	baja	baja	elevada	baja	elevada
E	no	no	no	baja	elevada	baja
F	baja	no	no	aumenta con pH	baja	elevada
A	-	-	-	-	-	-
B	-	crecimiento rápido	-	-	-	pliegues radiales
C	-	crecimiento irregular	-	cordones miceliales	-	-
D	-	-	-	exudados en la zona central	exudados en el centro de la colonia	pliegues radiales y exudados
E	zonas concéntricas y cordones miceliales	cordones miceliales	cordones miceliales	zonas concéntricas y cordones miceliales	zonas concéntricas y cordones miceliales	exudados en el centro de la colonia
F	zonas concéntricas	-	-	zonas concéntricas y cordones miceliales	zonas concéntricas y cordones miceliales	-

Presencia de pigmentos difusibles

Observaciones

Tabla I.- Características generales de los hongos estudiados, en relación con los medios de cultivo utilizados. A: *Amanita muscaria*; B: *Lactarius deliciosus*; C: *Rhizopogon luteolus*; D: *Rhizopogon roseolus*; E: *Suillus collinitus*; F: *Suillus granulatus*.  
 Tableau I - Caractéristiques générales des champignons étudiés, en relation avec les milieux de culture utilisés.

Por su parte, *S. granulatus* alcanzó máximo crecimiento en MMN(+glucosa), Hagem y PDA (Fig.1F), siendo MMN el medio donde el tamaño de la colonia fué mínimo (4 cm).

Las características culturales de los dos hipogeos estudiados son parecidas a las de los *Suillus*, no en valde se trata de géneros filogenéticamente próximos (Singer, 1986). Sus micelios son de color pardo, con tonalidades rojizas, amarillentas, etc., en función del medio donde se los hizo crecer. La formación de cordones miceliares estuvo restringida a *Rhizopogon luteolus* cultivado en MMN(+glucosa).

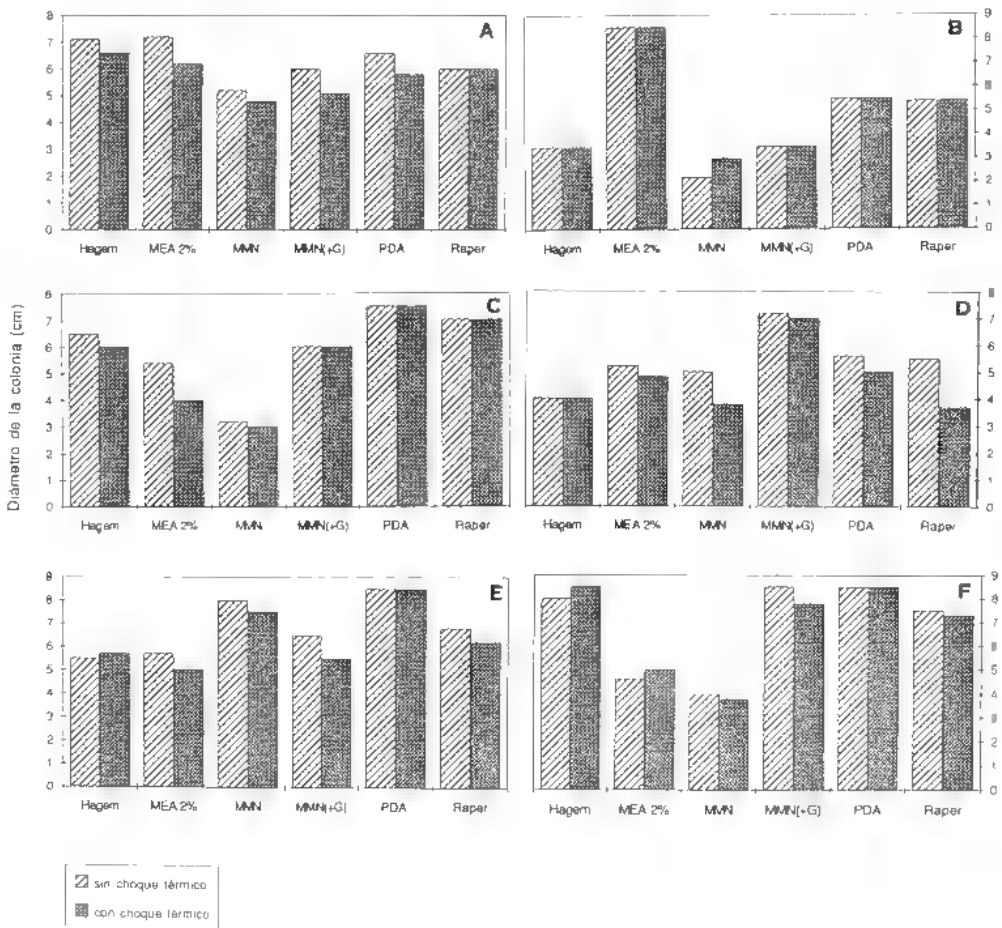


Fig. 1.- Máximo diámetro de las colonias en cada medio de cultivo. A: *Amanita muscaria*; B: *Lactarius deliciosus*; C: *Rhizopogon luteolus*; D: *Rhizopogon roseolus*; E: *Suillus collinitus*; F: *Suillus granulatus*.

Fig. 1 - Diamètre maximal des colonies dans chaque milieu de culture.

La respuesta de crecimiento frente a los distintos medios de cultivo ha sido en general inferior para los dos *Rhizopogon*, que para los boletáceos epigeos.

*R. roseolus* alcanzó su máximo crecimiento (7.2cm) en MMN (+glucosa) (Fig.1D). mientras que *R. luteolus* (Fig. 1C) lo hizo en PDA (7.5cm). El desarrollo que alcanzaron las colonias de ambos hipogeos en MMN fué muy bajo, con 5.0cm y 3.2cm para *R. roseolus* y *R. luteolus* respectivamente.

*Amanita muscaria* presentó un crecimiento máximo bastante homogéneo en todos los medios utilizados (Tabla II), con un ligero incremento en Hagem respecto de los demás, si bien poco significativo. El mayor diámetro de la colonia fué el alcanzado en MEA 2% (7.2cm) (Fig. 1A).

Los resultados obtenidos con *Lactarius deliciosus* no dejan de ser interesantes, sobre todo por la disparidad de los mismos. El micelio resultó denso o muy denso en Raper y PDA respectivamente. La variabilidad de coloraciones fue muy evidente, dependiendo del medio de cultivo. Solo en Hagem aparecieron los tintes verdosos, típicos de los carpóforos vetustos, manipulados o rasgados. El máximo tamaño de la colonia se obtuvo en MEA 2% (Fig.1B), donde en sólo 20 días de cultivo se alcanzaron los 8.5cm de diámetro. Ahora bien, este micelio era superficial y poco vigoroso.

#### Respuesta de crecimiento frente a pH y medios de cultivo

En general no parece existir una correlación entre pH y crecimiento de cualquiera de los hongos estudiados, sin embargo el medio de cultivo influye claramente tanto en la velocidad de crecimiento como en las características de los micelios obtenidos (Tabla II).

En la Tabla II se aprecian fuertes oscilaciones en el crecimiento miceliar de *S. collinitus* respecto de los seis medios ensayados, a medida que aumenta el pH. En PDA se alcanzó el máximo desarrollo de la colonia a pH 7.5. Pero esto no es significativo ya que en el resto de medios, los micelios alcanzaron su mayor diámetro a pH neutro o ligeramente ácido.

En *S. granulatus* solo en medio Hagem se aprecia una cierta correlación entre incremento de pH y diámetro de la colonia. El mayor desarrollo de los micelios se obtuvo en MMN (+glucosa), PDA y Hagem, a pH 5.5, 6.5 y 7.5 respectivamente. En MMN el crecimiento fué lento y el máximo tamaño alcanzado por la colonia no superó 3.8cm a los 60 días de cultivo .

Los dos hipogeos tampoco ofrecieron una clara correlación entre su crecimiento y el aumento de pH en los diferentes medios. Solo en Hagem y MMN (+glucosa) parece existir una respuesta lineal para ambos hongos. *R. roseolus* alcanzó su mayor desarrollo a pH 7.5 en MMN (+glucosa) y PDA. Por su parte, el mayor diámetro de las colonias de *R. luteolus* fué el obtenido en PDA, a pH 6.5.

*A. muscaria* tuvo un comportamiento muy diferente en cada uno de los medios ensayados frente al incremento del pH. Las tasas de crecimiento

	Tiempo (días)	pH	Hagem					MEA 2%					MMN					
			5,5	6	6,5	7	7,5	5,5	6	6,5	7	7,5	5,5	6	6,5	7	7,5	
Amanita muscaria	6		0,5	0	0,5	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12		1,1	0,5	1,2	1,5	1,5	1,2	0,5	0,8	0,8	0,3	1,2	1,3	1,2	1	1,7	
	20		1,5	0,8	2	2,4	2,9	2,6	1,2	1,5	2	0,6	1,8	2	1,6	1,9	2,7	
	27		■	1,2	2,5	3	3,4	3,9	3	2,6	2,3	1,5	2,7	2,4	2,4	2,8	2,8	
	36		2,2	2	3	3,4	4,4	5	4,2	3,5	3,2	2,7	3,1	3,2	2,9	4	3	
	48		2,2	2	3	3,4	4,4	7	5,4	5,3	4,6	3,5	3,1	3,8	4	4,8	5	
	56		2,5	3	3,6	4,6	6	7,1	5,5	5,4	4,7	3,8	3,2	4,1	4	5	5,2	
60		3,6	4	4	5	7,1	7,2	5,5	5,4	5	4,2	3,2	4,1	4	5	5,2		
Lactarius deliciosus	6		0	0	0,3	0	0	-	0	0	-	0	-	-	0	0	-	
	12		0,5	0,5	0,7	0,9	0,9	-	0,8	0,7	-	1,3	-	-	0	0	-	
	20		1	0,8	1,2	1,6	1,6	-	0,8	1,2	-	2,2	-	-	0	0	-	
	27		2,4	1,6	1,6	2,5	2,5	-	0,8	2,5	-	4,5	-	-	1	0,7	-	
	36		2,5	2,5	1,7	3	3	-	0,8	4,4	-	6,5	-	-	1,6	0,8	-	
	48		2,5	2,5	2,7	3,5	3,5	-	0,8	5,5	-	7,5	-	-	2	0,8	-	
	56		2,5	3,2	3,2	3,5	3,5	-	0,8	5,4	-	8,5	-	-	2,2	0,8	-	
60		2,5	3,2	3,2	3,5	3,5	-	0,8	6,4	-	8,5	-	-	3	2,1	-		
Rhizopogon luteolus	6		-	0,8	0	0,7	1	0,4	0,3	0	0	0	-	0	0	0	0	
	12		-	0,9	1,2	1,5	2	2,5	1,3	0,4	0,8	0,5	-	0,6	0,5	0,5	0,5	
	20		-	1,1	2	2,7	3	3,5	3	1	1,6	1,3	-	1,4	1,2	1,2	1,2	
	27		-	1,8	3,2	4,1	4,5	4	4,4	2,8	3,1	3,2	-	1,4	2,6	1,9	1,9	
	36		-	3,6	5	6	6,4	4,5	4,8	3,5	3,1	3	-	2	3	2,4	2,5	
	48		-	4,8	6	6	6,4	4,5	4,8	3,5	3,2	3	-	2,1	3	2,4	2,5	
	56		-	4,8	5,8	6	6,4	5	5,2	4,1	3,4	3,3	-	2,4	3,1	2,7	2,7	
60		-	5,5	6	6	6,5	5	5,4	4,8	■	3,9	-	2,6	3,1	3	3,2		
Rhizopogon roseolus	6		0	0	0	0	0	0	0,8	0,6	0	0	-	0	0	0	0	
	12		0	0	1	0	0	0,5	1,8	1,5	0,8	2	-	-	1	0	0	
	20		0,8	1	2	0	0,5	1,3	2,8	2	1,2	2,2	-	-	1,8	0,6	0,8	
	27		1,9	2,5	3,2	1	1,5	3,2	4,3	3,5	3	2,5	-	-	2,5	2,2	2	
	36		3	3,4	4	4	1,9	3,5	5	4	4,3	3	-	-	3,4	3	2,5	
	48		3,4	3,4	4	4	2,7	3,5	5	4	4,6	3	-	-	4	3,4	3,5	
	56		3,4	3,4	4	4	3	3,7	5,2	4,1	4,8	3,2	-	-	5	3,8	4,4	
60		3,4	3,4	4	4	3	■	5,2	4,4	■	3,2	-	-	5	4	4,5		
Suillus collinitus	6		0,8	0,5	0,5	0,4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	12		1	1	1	0,8	2	1,9	1	1,7	1,4	1,6	1	2,1	1,7	1,6	1,3	
	20		2,5	2	2,2	2	3	2,8	2,3	2,7	2,4	1,5	2	3,8	3,3	3,2	1,8	
	27		2,9	2,5	2,9	3	3,5	3,5	3,2	3,6	3,1	2,5	3,9	5,8	4,8	5,2	2,4	
	36		3,5	4,5	4,5	4	4	3,9	3,5	4,5	4,3	3,2	4,6	6,8	5,4	6	3	
	48		3,5	5	5,6	5	4	4,3	3,9	5,5	4,7	3,6	4,7	7,6	5,5	6,1	3,2	
	56		3,5	5	6	5,5	4,5	4,3	4,2	5,7	4,9	3,8	4,7	7,7	5,5	6,1	3,2	
60		3,5	5	6	5,5	4,5	4,3	4,2	5,7	4,9	3,8	5	8	5,5	6,1	■		
Suillus granulatus	6		0,8	1	0,7	0,4	0,2	0	0,4	0,3	0,3	0	-	0	0	0	0	
	12		2	2,4	2	1,5	1,2	0,7	1,6	1,3	0,5	0,8	-	1	0,5	0,4	0,7	
	20		4	4,5	5	5	5	1,6	2,4	2,4	1,4	1,2	-	1,5	1,3	1,2	2	
	27		4	6	6,5	7	7	2,7	3,6	3,5	2,6	2,4	-	2,3	2,4	2,4	2,5	
	36		4	6,5	7	7	7	3,3	3,6	4,4	3,6	3,1	-	3,2	3	2,4	2,8	
	48		4,2	7	7,5	7,6	7,6	3,6	4,1	4,5	4,4	3,7	-	3,6	3,5	2,8	2,8	
	56		4,2	7	7,5	8,5	8,5	3,6	4,4	4,8	4,6	3,7	-	3,8	3,7	3,3	3,5	
60		4,2	7	7,5	8,5	8,5	4	4,5	5	4,6	3,7	-	4	4	3,6	3,8		

Tabla II.- Diámetro de las colonias (cm) a lo largo de 60 días en cultivo. (-): Ausencia de datos, (Negrita): Tamaño máximo alcanzado por la colonia.

de este hongo fueron bastante similares, independientemente del pH considerado.

En *L. deliciosus* lo más destacable fué su limitado crecimiento en cualquiera de los seis medios ensayados. Su respuesta frente al pH resultó totalmente aleatoria. El mayor diámetro de las colonias se obtuvo en MEA 2%.

En cuanto al tratamiento frío al cual se sometieron la mitad de las placas sembradas, no se observó ninguna diferencia significativa en el crecimiento de los micelios para cualquiera de las especies cultivadas (Fig.1)

	Tiempo (días)	pH	MNN (+G)					PDA					Raper				
			5,5	6	6,5	7	7,5	5,5	6	6,5	7	7,5	5,5	6	6,5	7	7,5
Amortia muscaria	6	0	0	0,3	0	0,6	0,3	0	0	0	0	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,2
	12	0	0	0,6	0,5	1	1,5	1	0,7	0,6	0,6	1,2	1	0,8	0,6	0,6	0,3
	20	0,4	0,8	0,8	1,5	2,1	2,4	1,8	1,8	1,3	1,3	1,7	1,3	0,8	1	0,6	
	27	1	1,6	1,5	2,3	2,9	3,8	2,4	2,7	2	2	3,4	2	1,2	1,4	1	
	36	1,7	2,4	2	3,3	3,9	4,3	4,3	5,2	4	4	3,4	3	1,6	2	1,2	
	48	1,7	2,4	2	3,3	3,9	5	5	6	4	5,8	4,4	4,5	2	2,2	1,6	
	56	2,4	3,2	2	3,3	3,9	6	5,6	6	4	5,4	6	6	2	4	1,6	
60	2,4	3,2	2,5	4,8	6	6	5,5	6	4,3	6,6	6	5	2,3	4	2		
Lactarius delicosus	6	-	-	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	0,3	0,5	
	12	-	-	0	0,5	1	0	0	0	0	-	-	-	-	1	1,5	
	20	-	-	0	1	1,5	1	1,2	0,6	0,5	0,4	-	-	-	1,5	2	
	27	-	-	0,8	1,5	2	2,2	2,4	1,6	2,2	1,2	-	-	-	2	2,4	
	36	-	-	1,2	2	2,6	3,6	4	3,5	3,5	3,2	-	-	-	3	3,6	
	48	-	-	1,8	2,7	3,2	4,8	4,6	4	4	4,4	-	-	-	4,6	4,6	
	56	-	-	1,8	2,7	3,2	5,4	5,2	4,4	4,6	5	-	-	-	4,5	5,5	
60	-	-	2,2	2,8	3,5	5,5	5,2	4,4	5	5	-	-	-	4,8	5,5		
Rhizopogon luteolus	6	0,6	0,6	1	0	0	0,3	0,6	0,6	1	-	2	1,3	0,8	0,7	0,3	
	12	0,7	1,2	1,5	2	2	1,8	2,2	2,4	2,8	-	3,5	2,3	1,2	1,1	0,7	
	20	3	2,6	3	2,5	4	3,4	3,6	4	4,8	-	5	3,5	2	2,5	1,7	
	27	3,8	3,5	3,5	4,5	5	5,5	5,3	6,4	6,2	-	6	4,5	3,7	4,1	3,5	
	36	4,5	4,7	5,3	5,8	6	6,4	6	7,5	7	-	7	6,2	5,1	5,5	5,1	
	48	4,5	4,7	5,3	5,8	6	6,4	6	7,5	7	-	7	7	7	7	6,5	
	56	4,5	4,7	5,3	5,8	6	7	6,4	8	7,5	-	7	7	7	7	7	
60	4,5	4,7	5,3	5,8	6	7	6,4	8	7,5	-	7	7	7	7	7		
Rhizopogon roseolus	6	0,6	0	0	0	0	-	-	-	0	0	0	0	-	-	-	
	12	1,5	0	0	0	0	-	-	-	0,6	0	0	0	-	-	-	
	20	2,4	0,8	2,6	0	0	-	-	-	1,2	0	0	0	-	-	-	
	27	3,5	2,5	3,8	0	0	-	-	-	3	1,7	0,7	0	-	-	-	
	36	4,4	3,2	4,7	0	2,6	-	-	-	5	2,5	1,5	0	-	-	-	
	48	4,4	4,7	5	5,2	5,2	-	-	-	5,4	3,3	2,8	0,9	-	-	-	
	56	4,4	4,7	5,3	7,2	7,2	-	-	-	5,6	5,5	4	2,8	-	-	-	
60	5	4,7	6	7,2	7,2	-	-	-	5,6	5,5	4	2,8	-	-	-		
Suillus collinitus	6	0,7	0	0,4	0	0	0	0	0	0	0,6	0,6	1	0,3	0,4		
	12	2,4	1,7	0,9	0,4	1,2	0,6	0	0,8	0,5	1,3	1,6	1,3	2	0,9	1,2	
	20	3	2,7	1,3	0,8	2,2	1,5	2,2	2,5	1,5	3,6	2,4	2	3,3	1,6	1,8	
	27	3,6	3,6	2,1	1,6	3,1	4,2	3,7	5,5	4,5	5,6	3,3	2,4	4,8	2,5	2,7	
	36	4	4,4	2,6	3,8	4,1	6	4,8	7,5	6,4	7	5	3,2	5,9	3,4	3,9	
	48	5	5,5	3,2	5,8	5	6,5	5,6	8	7,5	8	6	4,4	6,8	4,8	5	
	56	5	5,5	4,7	6,5	5	7,3	6,1	8,5	8,1	8,5	6,4	4,8	6,8	4,9	5,6	
60	5	5,5	4,7	6,5	5	7,3	6,1	8,5	8,1	8,5	6,5	5	6,8	5	6		
Suillus granulatus	6	1,6	1,9	2,1	1	1,6	0	0	0	0	0	1	1	0,6	1	0,5	
	12	2,6	3	3,5	1,6	2,6	0,6	0	0	0	0	2,3	2,8	1,4	1,6	1	
	20	4,4	3,7	4	2,5	4,4	2,5	3,3	3,2	2,8	3,5	3,6	1,5	2,2	1,2		
	27	6,2	4,8	5	3,4	6,2	6,2	2,4	5,5	6,6	6,6	4,3	4,7	2,5	3	1,8	
	36	7,3	6,4	6,6	4,5	7,9	7	7,4	7,4	7,6	7,6	5,6	6	3,6	4,8	3	
	48	8,5	7,3	7,6	6,4	8,4	7	7,4	7,4	7,6	7,6	6,7	7,2	4,5	6	4	
	56	8,5	8,3	8,5	7,5	8,4	7,2	7,6	7,4	8,5	8,5	7	7,5	6,5	7,5	6,5	
60	8,5	8,3	8,5	7,5	8,4	7,2	7,6	7,4	8,5	8,5	7	7,5	6,5	7,5	6,5		

Tableau II. - Diamètre des colonies (cm) jusqu'à 60 jours de culture. (-): pas de résultat, (**gras**): valeur maximale obtenue pour la colonie.

BIBLIOGRAFIA

CHEVALIER G. et DETOLLE M., 1984 - Obtention de bolets de pin (*Suillus collinitus* (Fr.) O.Kuntze ), en pot, sur plantules de pin d'Alep mycorrhizées artificiellement en conditions contrôlées. *Agronomie* 4: 211.

CHU-CHOU M. and GRACE L.J., 1984 - Cultural characteristics of *Rhizopogon spp.* associated with *Pinus radiata* seedlings. *New Zealand J. Bot.* 22: 35-41.

LACY M.L. and BRIDGMON G.H., 1962 - Potato-dextrose agar prepared from dehydrated mashed potatoes. *Phytopathology* 52: 173.

- MARX D.H., 1969 - The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections.I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. *Phytopathology* 59: 153-163.
- MIKOLA P., 1973 - Application of mycorrhizal symbiosis in forestry practice. In: MARKS C.G. & KOZLOWSKI T.T., *Ectomycorrhizae- Their ecology and physiology*. New York, Academic press: 383-411.
- MODESS O., 1941 - Zur Kenntnis der Myckorrhizabilder von Krefefer und Fichte. *Symb. Bot. Upsal.* 5: 1-147.
- RAPER J.R. and RAPER C.A., 1972 - Life cycle and prospects of interstrain breeding in *Agaricus bisporus*. *Mushroom Sci.* 8: 1-19.
- SINGER R., 1986 - *The Agaricales in the modern taxonomy*. 4th ed. Vaduz, J. Cramer, 981 p.
- TRAPPE J.M., 1962 - Fungus associated of ectotrophic mycorrhizae. *Bot. Rev.* 28: 538-606.
- TRAPPE J.M., 1977 - Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. *Annual Rev. Phytopathol.* 15: 203-222.
- WAHL I., 1954- Mycorrhiza of Aleppo Pine in Israel. VIIIe Congrès International de Botanique. Paris 1954. Rapports et Communications parvenus avant le Congrès. Aux sections 9 et 10: 130.



**SOME INTERESTING AGARICS AND A RARE SPECIES  
OF *SCLERODERMA* PRESENTED AT  
THE II AND III MYCOLOGICAL STAGES OF  
ESPLUGAS DE LLOBREGAT (BARCELONA, CATALUÑA)<sup>1</sup>**

G. MORENO\*, R. PÖDER\*\*, C. ILLANA\* and F. ESTEVE-RAVENTÓS\*

\*Dpto. de Biología Vegetal (Botánica), Universidad  
de Alcalá de Henares, Madrid, España.

\*\* Institut für Mikrobiologie der Universität  
Innsbruck, Austria.

**ABSTRACT** - During the II and III mycological stages held in Esplugas de Llobregat (Barcelona) in 1988 and 1989, some interesting agarics and Gasteromycetes were studied by us. The results are presented in this work, where the following taxa are described or commented: *Amanita franchetii*, *Calocybe ionides*, *Entoloma corvinum*, *E. hebes*, *Lyophyllum leucophaeatum*, *Pluteus podospileus*, *Psathyrella caput-medusae*, *Russula cavipes*, *R. cistoadelpha*, *R. nuragica*, *R. subazurea*, *Xerocomus moravicus* and *Scleroderma fuscum*. Three species have not been previously recorded in the Iberian Peninsula: *Lyophyllum leucophaeatum*, *Pluteus podospileus*, and *Russula nuragica*. The new combination *Panaeolus cyanescens* var. *bisporus* Moreno & Esteve-Raventós comb. nov. is proposed.

**RÉSUMÉ** - Nous étudions les espèces suivantes d'Agaricales et de Gastéromycètes: *Amanita franchetii*, *Calocybe ionides*, *Entoloma corvinum*, *E. hebes*, *Lyophyllum leucophaeatum*, *Pluteus podospileus*, *Psathyrella caput-medusae*, *Russula cavipes*, *R. cistoadelpha*, *R. nuragica*, *R. subazurea*, *Xerocomus moravicus* et *Scleroderma fuscum* récoltées lors de la IIème et IIIème exposition mycologique de Esplugas de Llobregat (Barcelone). Trois espèces sont nouvelles pour la mycoflore ibérique: *Lyophyllum leucophaeatum*, *Pluteus podospileus* et *Russula nuragica*. Nous proposons la nouvelle combinaison *Panaeolus cyanescens* var. *bisporus* Moreno & Esteve-Raventós, comb. nov.

**KEY WORDS** : Taxonomy, Agaricales s.l., Gasterales, Catalonia, Spain.

1. This paper was presented at the "V Reunión Conjunta de Micología" held in Barcelona (30 Sept. to 3 Oct. 1990).

### INTRODUCTION

The Mycological Stages held in Esplugas de Llobregat (Barcelona) in 1988 and 1989 proved up to be a good opportunity to study some interesting agarics. This aim of this work has been to present those species that

might be of scientific interest, due to their rarity or because of their ecological or chorological interest, mainly for the Catalonian region.

The photographs have been made with a Nikon microscope, model Labophot, with an incorporated semi-automatic photographic system. The material has been examined microscopically in Congo red and  $\text{NH}_4\text{OH}$  (5%).

The specimens have been deposited at the Herbarium of Plant Biology (Botany) of the University of Alcalá de Henares (Madrid) -H.AH-. A complete protologue is indicated for those taxa not recorded previously in Spain, according to the consulted bibliographic references, or due to their recent creation.

### CATALOGUE OF SPECIES

*Amanita franchetii* (Boud.) Fayod. *Ann. Sci. Nat., Bot.* 9: 316, 1889.  
= *Amanita queletii* Bon & Dennis, *Doc. Mycol. (Lille)* 56: 22, 1984.  
= *Amanita aspera* (Pers.:Fr.) Hooker, *s. auct., non Pers.*

*Amanita franchetii* is a well-known species in our Peninsula, mainly in Catalonia; however, it might be convenient to emphasize some points concerning its present nomenclatural treatment. The classic name *A. aspera* (Pers.:Fr.) Hooker is no longer valid, the taxon described by Persoon belongs to a species of *Lepiota* (Bon, 1984). The position of *A. franchetii* as the valid species name relegates *A. queletii* to a mere synonym.

The taxon is characterised by its yellow and thick scales on the cap and the napiform stem covered by yellowish scaly zones under the ring. Some infraspecific taxa have been created by the colour variation exhibited by the species.

*Material examined:* Sant Grau (Gerona), in humus of *Quercus suber* and *Arbutus unedo*, 20/X/1988, leg. G. Moreno & C. Illana, H.AH 11876.

*Calocybe ionides* (Bull.:Fr.) Donk, *Nova Hedwigia* 5: 43, 1962.

The specimens studied fit the recent description of Dermek (1987); the purplish-violet colours of the cap and stem and the whitish to yellowish gills are typical. *Calocybe obscurissima* (Pers.) Moser shows brown, never violet, colours.

*C. ionides* has been previously recorded in the Basque Country (Lacozqueta, 1885; Pérez del Moral, 1979) and in central Spain (Esteve-Raventós, 1987). A colour plate has been recently published in the VI collection of "Bolets de Catalunya" (n° 259, 1990), edited by the Catalonian Mycological Society.

*Material examined:* Santa Fe del Montseny (Barcelona), in humus of *Fraxinus excelsior* and *Acer sp.*, 17/X/1989, leg. R. Pöder & G. Moreno, H.AH 11874.

*Entoloma corvinum* (Kühner) Noordel., *Nord. J. Bot.* 2: 162, 1982. Fig. 1-3.  
≡ *Rhodophyllus corvinus* Kühner, *Rev. Mycol. (Paris)* 19: 4, 1954.

This rare species shows a beautiful dark-blue cap, neither striate nor hygrophanous, covered by little squamules; the concolorous stem becomes paler when dry and the gills never exhibit a blue edge. Its spores show a great variability (from nearly isodiametric to heterodiametric).  $Q = 1,1-1,6$ .

In Spain, it has been probably mistaken with *E. chalybaceum* or *E. mougeotii*. *E. serrulatum* shows a dark-blue gill edge. It has been previously recorded from Granada (Noordeloos, 1987) and Jaën (Ortega, 1990).

*Material examined:* Santa Fe del Montseny (Barcelona), among grass in a mixed forest of *Fraxinus excelsior* and *Acer sp.*, 17/X/89, leg. R. Pöder & G. Moreno. H.AH 11875.

*Entoloma hebes* (Romagn.) Trimbach, *Doc. Mycol. (Lille)* XI(44): 6, 1981. Fig. 4-7.

= *Entoloma hirtipes* var. *hebes* (Romagn.) Esteve-Raventós, *Bol. Soc. Micol. Madrid* 14: 147, 1990.

*Entoloma hebes* is a member of section *Nolanea* with "mycenoid" habit, umbonate cap and mealy smell. Heterodiametric spores and a sterile gill edge composed of variable cystidia are similar to *E. hirtipes* and its position as a distinct species from this is arguable.

It was only known in our Peninsula from the province of Madrid in humus of *Quercus pyrenaica* forest (Esteve-Raventós & Moreno, 1990).

*Material examined:* Santa Fe del Monseny (Barcelona), in humus of *Fraxinus excelsior* and *Acer sp.*, 17/X/89, leg. R. Pöder & G. Moreno. H.AH 11878.

*Lyophyllum leucophaeatum* (P. Karst.) P. Karst., *Acta Soc. Fauna Fl. Fenn.* 2: 3, 1881. Fig. 8-14.

Cap 3.5-5cm diam., convex, brownish-grey at first, then blackening. Gills emarginate to adnate, close, becoming black when old or when touched. Stem concolorous, 3.5-4.5 x 0.6-0.8cm, cylindrical to bulbous, bruising grey-brown. Smell faint or none. Epicutis formed by branched, clamped hypahe, 3-6.5µm wide. Spores 6-9 x 2-3µm, cylindrical to fusiform, hyaline, non-amyloid, somewhat warty. Basidia 4-spored, clavate and clamped. Marginal cystidia very variable, generally filiform with short excrescences, sparse.

The specimens studied fit mostly the description of Clemençon (1982). There does not seem to be any reference to this species in our geography, not even under the epithet *fumatofocens* ( Secr.) J. Schaeff.

*Material examined:* Santa Fe del Montseny (Barcelona), in humus of *Abies alba* and *Fagus sylvatica*, 17/X/89, leg. Soc. Micol. Esplugas de Llobregat. H.AH 11881.

*Panaeolus cyanescens* Berk. & Broome var. *bisporus* (Malenç. & Bertault) Moreno & Esteve-Raventós **comb. nov.**, Fig. 16-22.

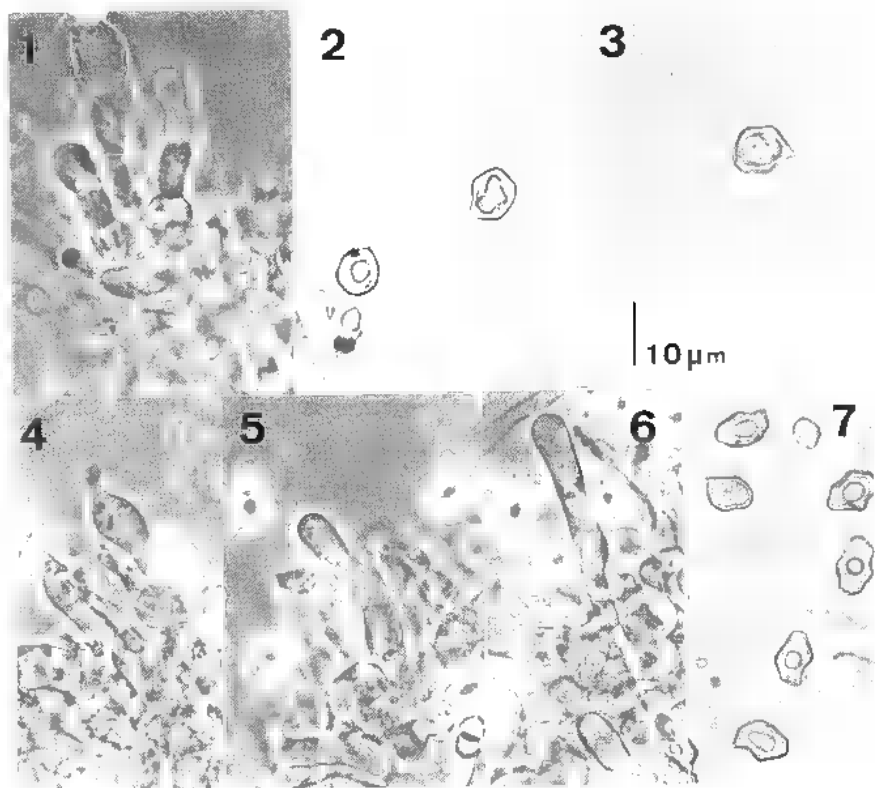


Fig. 1-3. *Entoloma corvinum* (Kühner) Noordel. 1: marginal cystidia. 2-3: spores.  
 Fig. 4-7. *Entoloma hebes* (Romagn.) Trimbach. 4-6: marginal cystidia. 7: spores.

= *Copelandia papiliomacca* var. *bispora* Malenç. & Bertault, Champ. Sup. Maroc 1: 301, 1970.

= *Copelandia bispora* (Malenç. & Bertault) Singer & Weeks, *J. Nat. Prod.* 42: 472, 1979.

The material fits the description of Moreno et al. (1986). This rare species is characterised by its small habit, flesh with bluish tints with age or when touched and, microscopically, by its predominantly 2-spored basidia, citriform spores with an apical and central germ-pore and typical metuloid cystidia with thick walls and brownish contents. The sterile gill-edge is totally formed by lageniform to utriform cystidia.

We follow Ola'h's (1970) sense of considering *Copelandia* as synonymous with *Panaeolus*, and that is the reason for the new combination. Clamps are present in var. *cyanescens* and var. *bisporus* as well, according to Ola'h (1970) and Weeks et al. (1979); moreover, bluing of the flesh occurs in both taxa and, according to our own observations in the Iberian collections, may be more or less distinct depending on environmental factors. *Panaeolus cyanescens* var. *bisporus* is a typical Iberian-North African taxon while var.

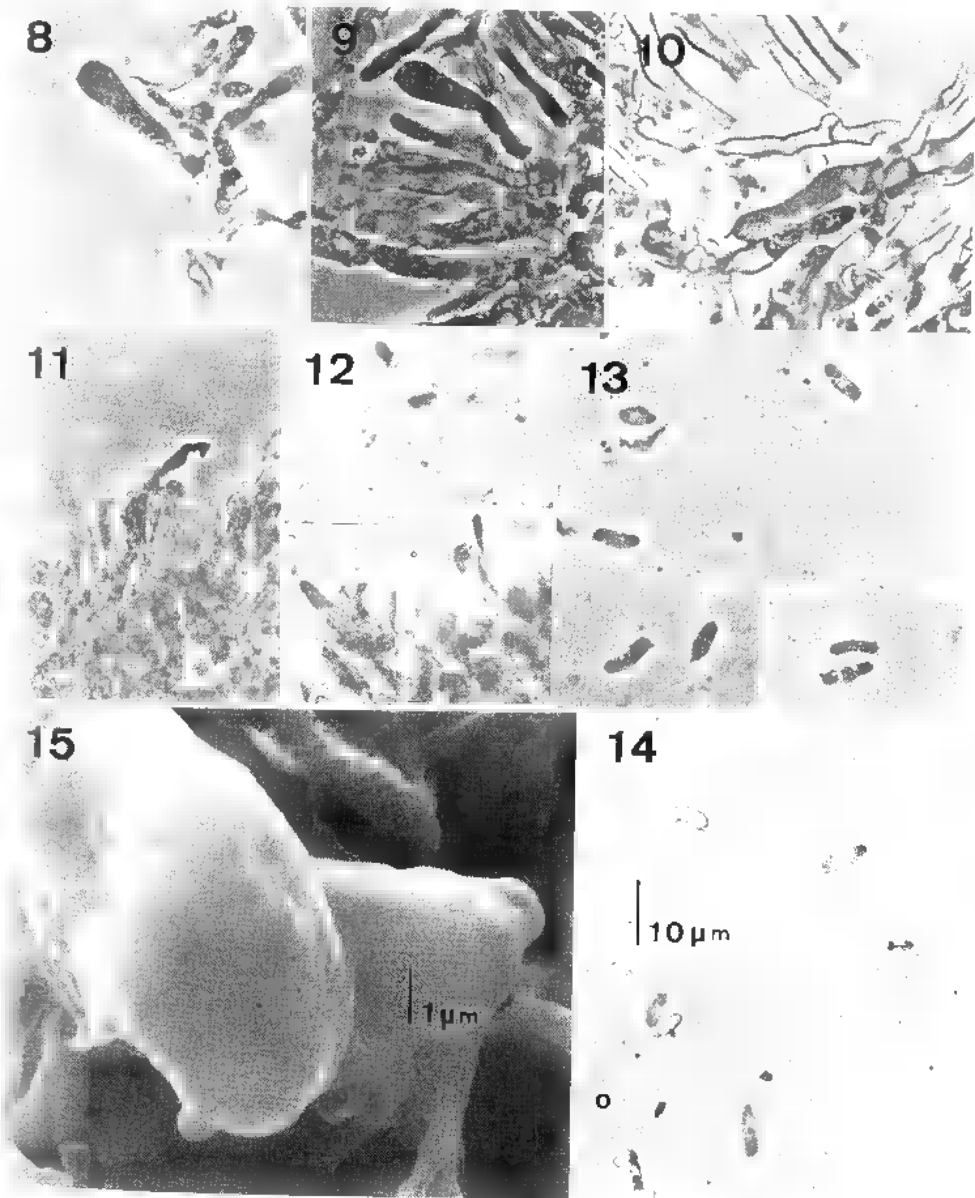


Fig. 8-14. *Lyophyllum leucophaeatum* (P. Karst.) P. Karst. 8-9: basidia. 10: clamp-connections. 11-12: marginal cystidia. 13-15: spores.

*cyaneoscens* is widespread in tropical areas (Weeks et al., 1979). This species was previously recorded in our country by Moreno & Barrasa (1977) and Moreno et al. (*loc. cit.*), growing in grass.

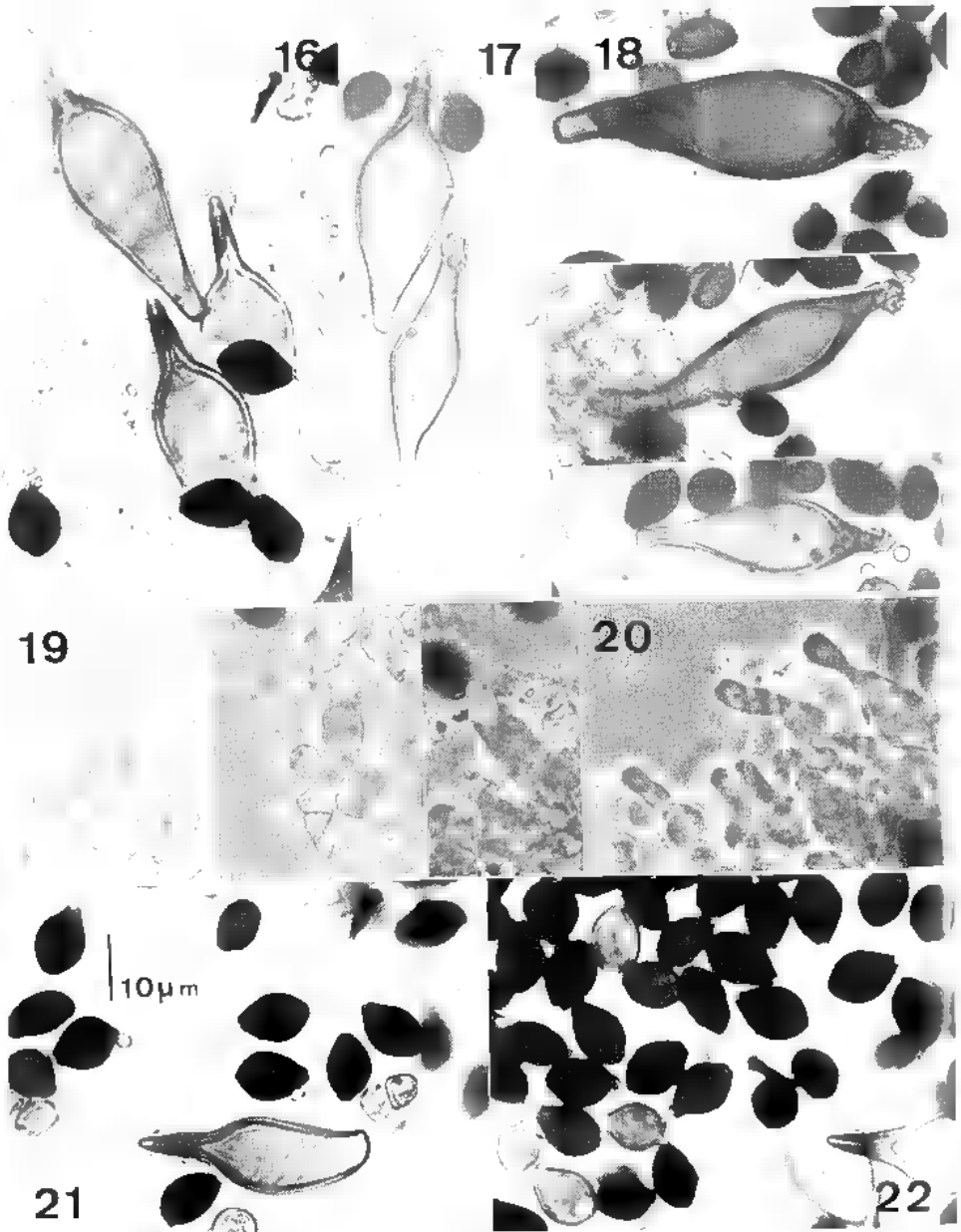


Fig. 16-22. *Panaeolus cyanescens* var. *bisporus* (Malenç. & Bertault) Moreno & Esteve-Raventós. 16-18: facial cystidia. 19: bisporic basidia. 20: marginal cystidia. 21-22: spores.

*Material examined:* Sant Boi, hotel El Castel (Barcelona), in grass of *Stenotaphrum americanum*. 18 X 88, leg. C. Illana, R. Pöder & G. Moreno. H.AH 11871.

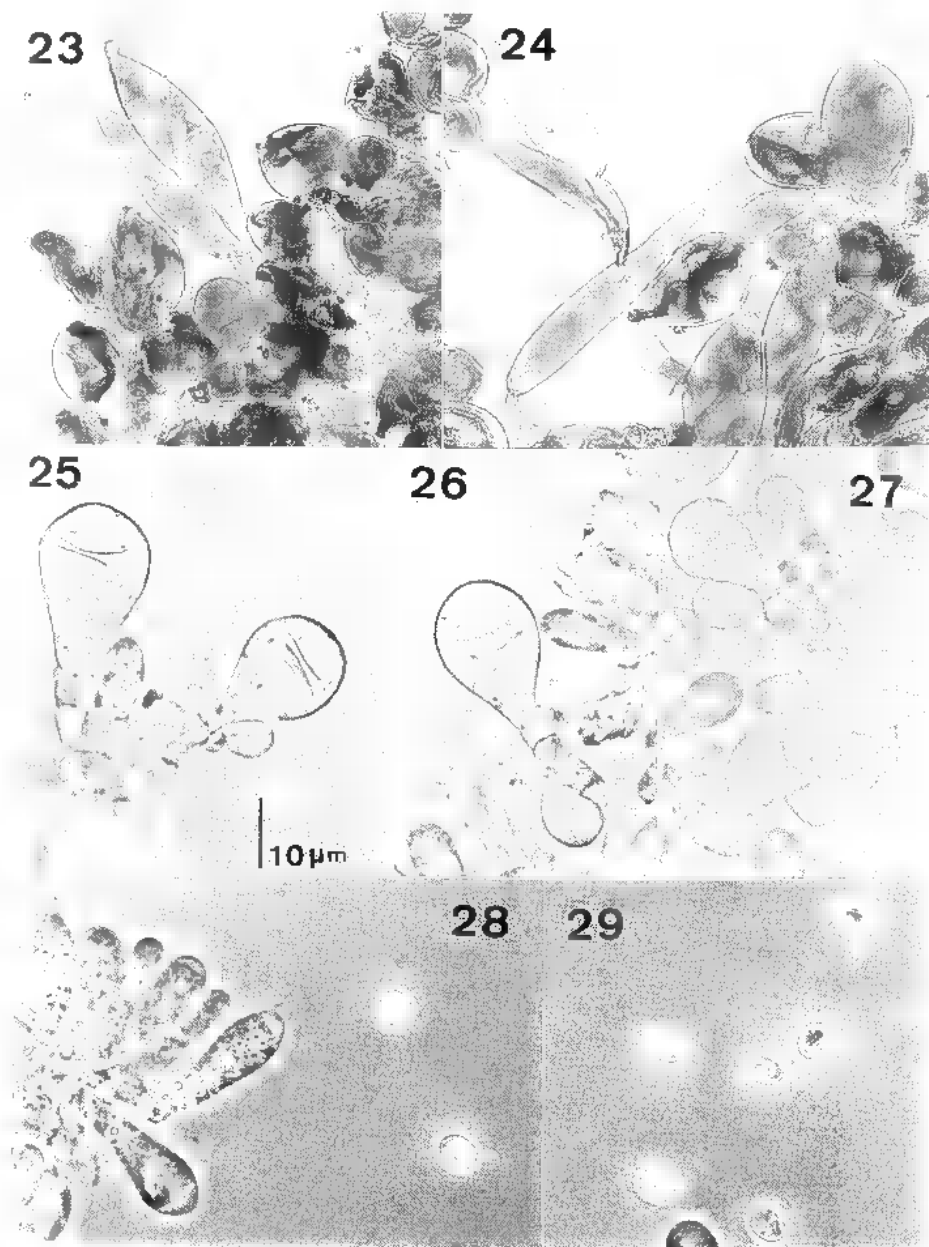


Fig. 23-29. *Phuteus podospileus* Sacc. & Cub. in Sacc. 23-24: epicutis. 25-27: marginal cystidia. 28: basidia. 29: spores.

*Pluteus podospileus* Sacc. & Cub. in Sacc., Syll. Fung. 5: 672, 1887, Fig. 23-29.

The collection showed the following characters: cap 1-1.5cm, russet brown to greyish-brown, granulate-wrinkled, with striate margin. Stipe 1.2-1.5 x 0.1cm, cylindrical, greyish, wholly covered with brown floccules. Epicutis hymeniform, formed by clavate and fusiform to cylindrical terminal cells, with brown vacuolar pigment. Clamps absent. Spores 7-7.5 x 4.5-6µm, ovoid to ellipsoid, slightly constricted at the middle. Basidia 4-spored and clavate. Marginal cystidia globose to claviform, 22-35 x 14-22µm, with catenulate base.

According to Vellinga & Schreurs (1985), *P. podospileus* presents two forms: forma *podospileus* and forma *minutissimus*; the latter lacks brown floccules on the stipe or has them only in its basal part. *P. minutissimus* was described by Maire (1937) in Catalonia. No data about its presence in our Peninsula are known by us.

*P. podospileus* belongs to section *Celluloderma* Fayod, subsection *Mixtini* Singer, characterised by the epicutis formed by claviform cells mixed with fusiform to cylindrical ones.

*Material examined:* Santa Fe del Monseny (Barcelona), in humus of *Fagus sylvatica* and *Corylus avellana*, 17 X:89, leg. R. Pöder & G. Moreno H.AH 11882.

*Psathyrella caput-medusae* (Fr.) Konrad & Maubl. Encycl. Mycol. 14 (Agaricales 1): 127, 1948, Fig. 30-34.

This rare lignicolous species of *Psathyrella* grows in clumps, and shows a fibrillose to squamose cap, a wide and striated ring and a scaly, tapering stipe. The spores are rather typical, ellipsoid to amygdaliform, without germ-pore and with a prominent hilar-appendix. Marginal and facial cystidia are variable, utriform with capitate apex to lageniform.

Calonge (1987) recorded this species from the province of Segovia (Castilla) on *Pinus sylvestris* stump; it was previously known from the Mycological Catalogue of the Basque Country (Anonimo, 1981).

*Material examined:* Campellas (Gerona), in *Pinus sylvestris* stump, 18:X:89, leg. Soc. Micol. Esplugas de Llobregat. H.AH 11880.

*Russula cavipes* Britzelm., Hymenomyces aus Südbayern: 7, pl. 512, f. 98, 1893, Fig. 35-39.

The fruitbodies examined showed a cap with lilaceous-violet to blackish colours, a white stipe and distant pale gills. Spore-print cream. Taste acrid. Epicutis with abundant dermatocystidia and spores 9 x 8µm, ellipsoid, with crowded warts connected by a few lines.

It has been rarely recorded in Spain, only known from Catalonia up to date (Bertaux, 1964; Singer, 1982).



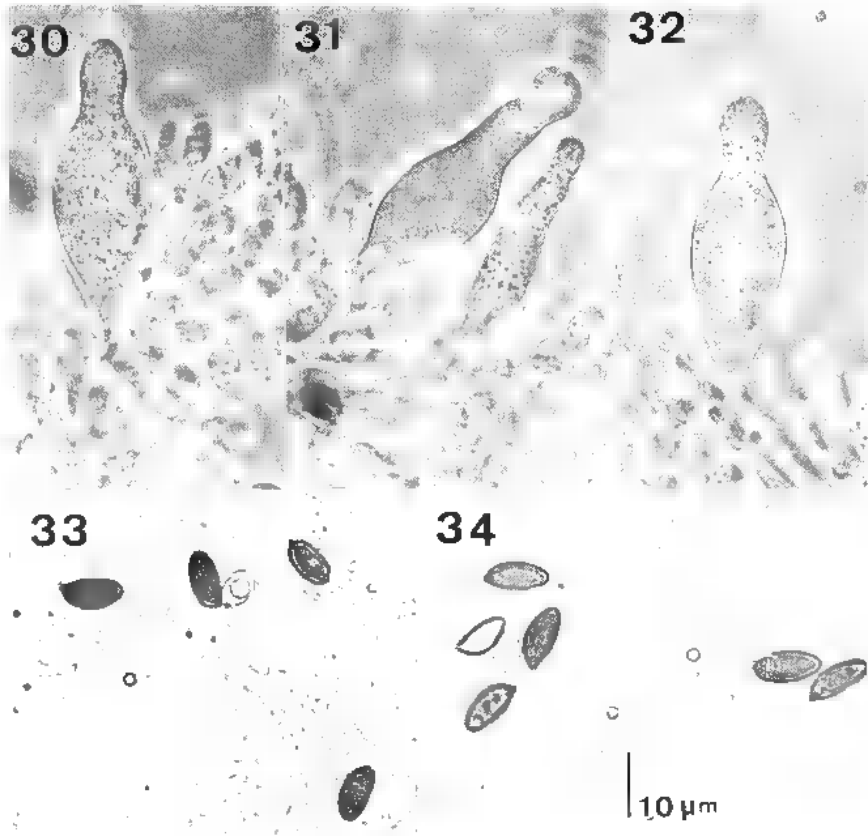


Fig. 30-34. *Psathyrella caput-medusae* (Fr.) Konrad & Maubl. 30-32: cystidia. 33-34: spores.

*Material examined:* Campellas (Gerona), in humus of *Pinus sylvestris*. 18-X-89, leg. Soc. Micol. Esplugas de Llobregat. H.AH 11880.

*Russula cistoadelpha* Moser & Trimbach, *Sydowia* 34: 125, 1981. Fig. 40-46.

It has been recently described by Moreno & Esteve-Raventós (1988) from Extremadura, growing under *Cistus*. It is only known from Italy, France and Spain, but is probably widespread in mediterranean areas.

The samples showed cylindrical and septate cheilocystidia and spores  $8-9 \times 7-8 \mu\text{m}$ , ellipsoid and warty-subreticulate.

*Material examined:* Sant Grau (Gerona), in humus of *Cistus salviaefolius* and *Pinus pinaster*, 20/X/88, leg. C. Illana & G. Moreno. H.AH 11870.

*Russula nuragica* Sarnari, *Boll. Gruppo Micol. G. Bresadola, Trento* 29: 16, 1986. Fig. 47-49.

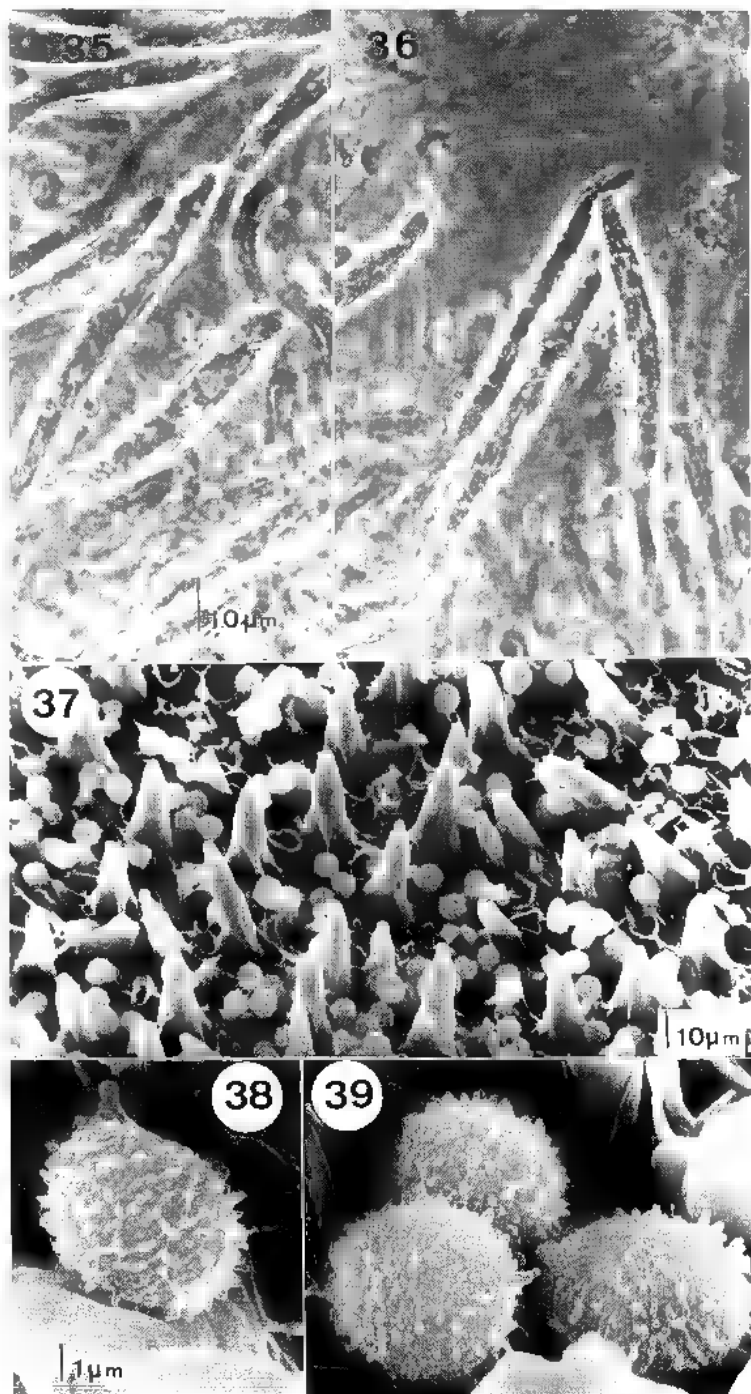


Fig. 35-39. *Russula cavipes* Britzelm. 35-36: dermatocystidia. 37: facial cystidia. 38-39: spores.

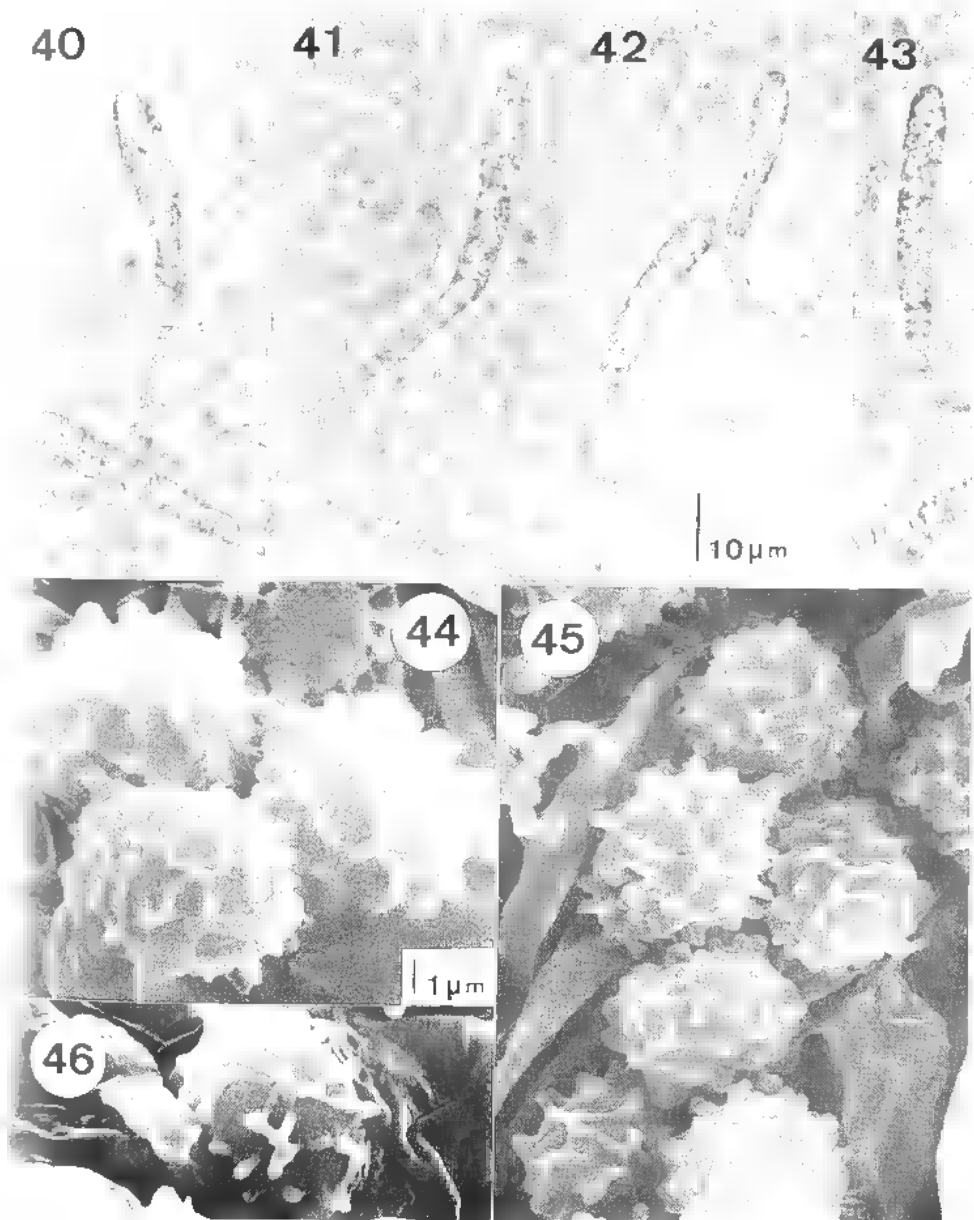


Fig. 40-46. *Russula cistoadelpha* Moser & Trimbach. 40-43: dermatocystidia. 44-46: spores.

Cap 3-6cm, grey with lilaceous tints at the edge, discolouring when old, convex to slightly depressed at the centre. Gills whitish to cream, yellowing when old. Stipe whitish, slightly greyish with age, cylindrical to claviform.

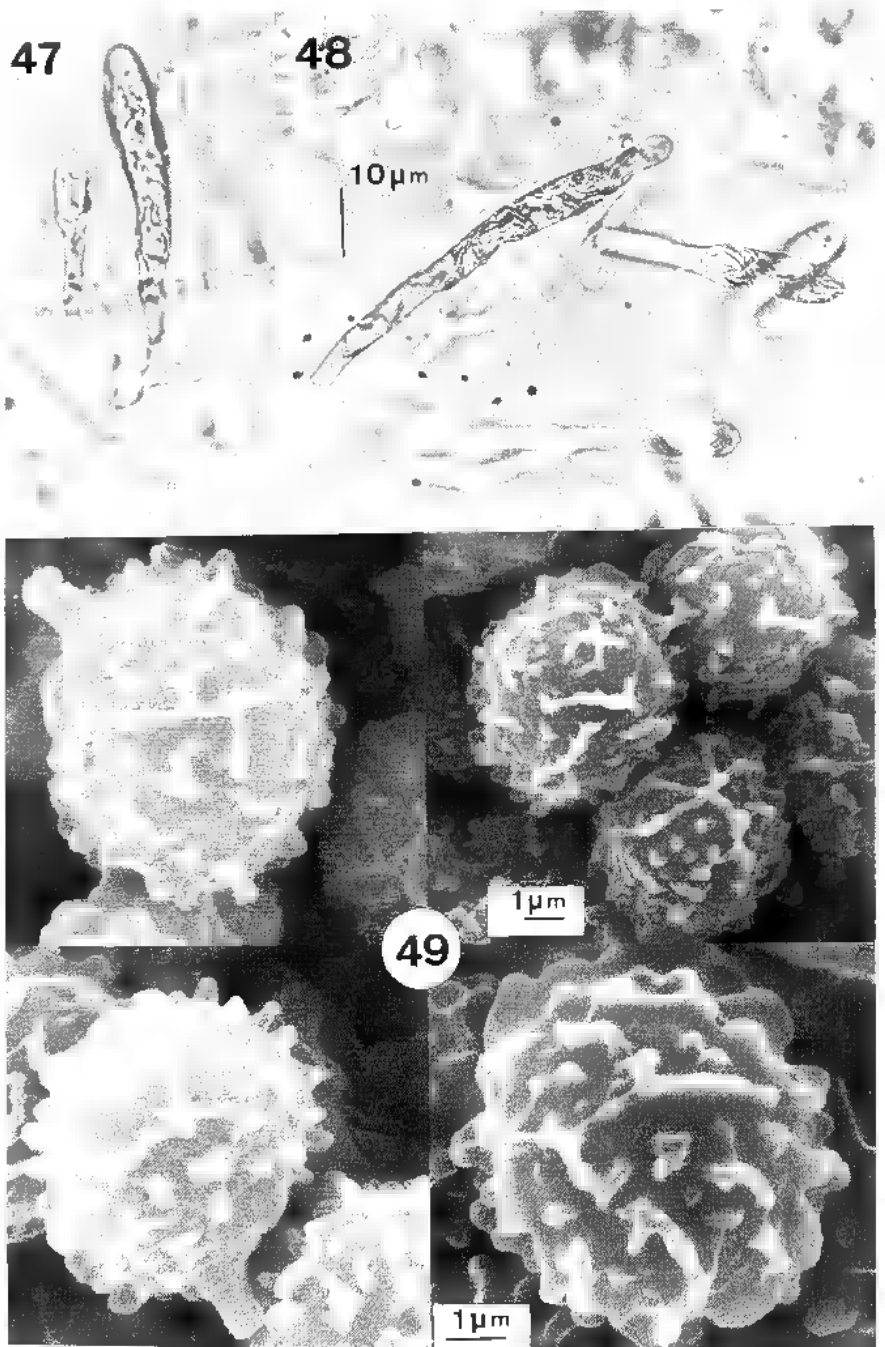


Fig. 47-49. *Russula miragica* Sarnari. 47-48: epicutis. 49: spores.

Spore-print yellow according to Romagnesi's chart (1967). Taste mild, acrid in the gills.

Epicutis a trichodermis, with septate, branched hyphae, where the terminal cell is often a typical dermatocystidium that becomes blackish in SBA reagent. Spores 7-9 x 6-7.5µm, amyloid, warty-reticulate.

*R. miragica* is only known from Italy and France (Bon, 1988). It is characterised by the lilaceous colours of the cap on a more or less greyish ground (similar to taxa of *Griseineae*). Its yellowish spore-print, the typical dermatocystidia, spores and mediterranean habitat (mainly in *Quercus suber*, *Q. ilex* forests...) are unmistakable.

*Material examined:* Sant Grau (Gerona), in humus of *Quercus suber*, *Q. ilex* and *Q. cerris*, 20/X/88, leg. G. Moreno & C. Illana. H.AH 11877.

*Russula subazurea* Bon, *Doc. Mycol. (Lille)* 17: 34-35, 1075. Fig. 50-54.

This species was originally described from France and has been recently found in Italy (Donelli, 1988) and Spain (Moreno et al., 1990). It is a small species of section *Lilaceae*, characterised by violet colours on cap and sometimes in the stipe, white gills, pale cream spore-print, mild taste and, microscopically, by its primordial hyphae and spores with a reticulated ornamentation.

*R. lilacea* var. *retispora* Sing. does not share the same ecology (though it is macro and microscopically quite similar); *R. subazurea* is frequent in mediterranean areas, often under *Arbutus* and *Quercus* sps.

*Material examined:* Mont Negre (Barcelona), in humus of *Quercus suber*, 19/X/88, leg. G. Moreno & C. Illana. H.AH 11869. Sant Grau (Gerona), in humus of *Quercus suber* and *Arbutus unedo*, 20/X/88, leg. G. Moreno & C. Illana. H.AH 11868.

*Xerocomus moravicus* (Vacek) Herink, *Česka Mykol.* 18: 193-203, 1964.

= *Boletus tumidus* Fr. ss. Peltereau

= *X. boudieri* Sing. in *Ann. Mycol.* 40: 43 nom. nudum, 1942.

= *B. leonis* Reid in *Nova Hedwigia*, Supplement: Icones of Rare and Interesting Fungi, 1: 7, Pl. 3a-b, 1966.

Our material fits the description of Herink (1964) nearly perfectly. The surface of cap is subsquamulous, finely areolate in the center. Stipe cylindrical to fusiform, slightly rooting, pale ochraceous, minutely granulate punctate at apex. Flesh pale ochraceous, more coloured towards the stem base.

For the following reasons, elucidated by one of us (Pöder), we consider *B. leonis* Reid a synonym: Reid, in his original description (1966, p. 11) noted: "Nevertheless, there occurs in Czechoslovakia a closely related species - *B. moravicus* (Vacek) distinguished by a pink tinge to the pileus - and it is possible that some of the records of this species may represent *B. leonis*. Thus the account of *B. moravicus* published by Herink (1964) could, in part, refer to *B. leonis* although it is not quite clear whether any of his specimens showed the characteristic surface to the pileus as found in *B. leonis*". How-

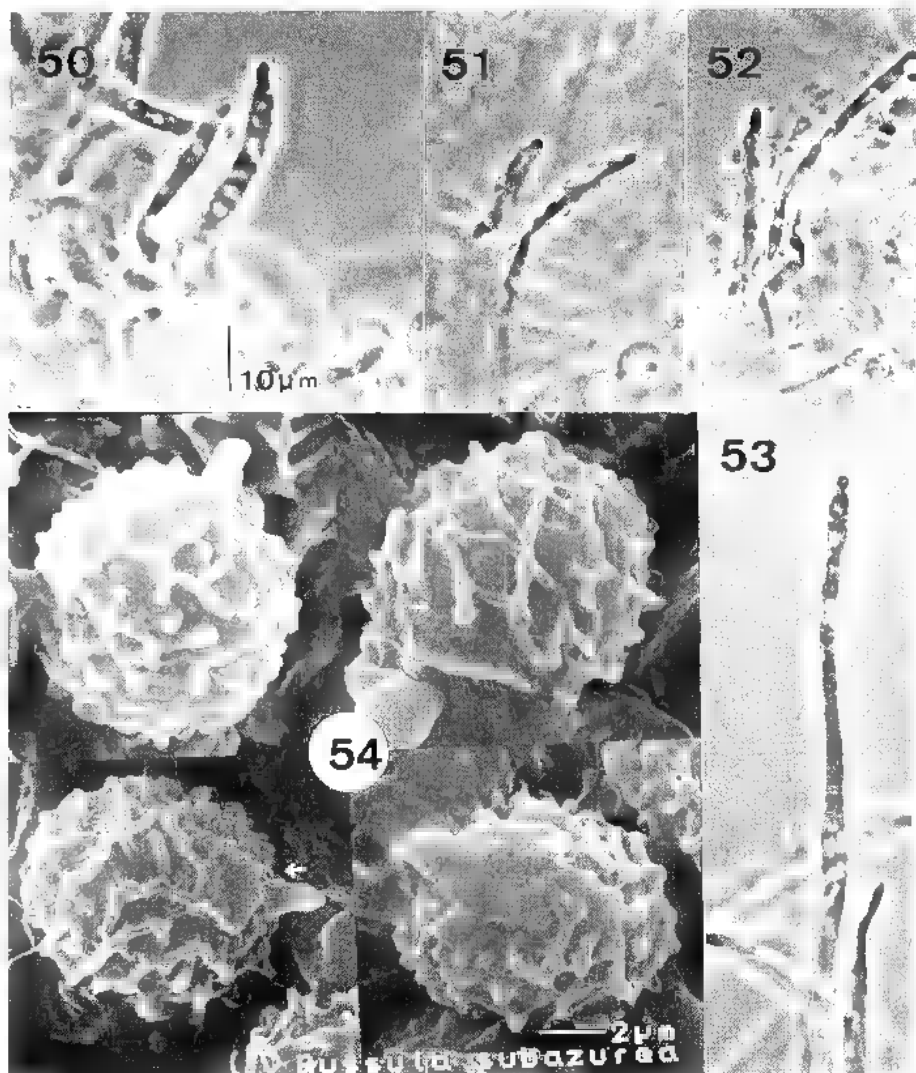


Fig. 50-54. *Russula subazurea* Bon. 50-53: primordial hyphae. 54: spores.

ever, according to this latter feature he mentioned Blum (1962) as a whitish pileus "... recouverte de très légères squamules ..." without mentioning that Blum at the same place described the colour of pileus as "fauve ou roussâtre".

It is correct that the specimens of *A. moravicus* in Herink's coloured plate (T. 54) do not show an areolate or disrupted center of pileus but in the black and white reproductions of photographs (Tab. XIII and Tab. XIV) in his article this character is at least as evident as in Reid's plate of *B. leonis*. In addition, Herink in his redescription noted "Revêtement...",

finement tomenteux, ..., puis progressivement rompu-aréolé du centre vers la marge...". Moreover, in the same article Herink published a pale form of *X. moravicus* - forma *palescens*.

*Scleroderma fuscum* (Corda) Fischer. *Nat. Pflanzenfam.* 1: 336, 1899. Fig. 55-56.

The material studied consists of two globose fruitbodies, joined by their base, and macroscopically they fit the description of Calonge (1983). Microscopically, it shows olivaceous and globose spores, with reticulate ornamentation, surrounded by typical hyaline and cyanophilous cells.

It has only been previously recorded once in our country, in Madrid by Calonge (*loc. cit.*).

*Material examined:* Santa Fe del Montseny (Barcelona), in humus of *Fagus sylvatica* and *Pinus sp.*, 17/X/89, leg. C. Lucchini. H.AH 11867.

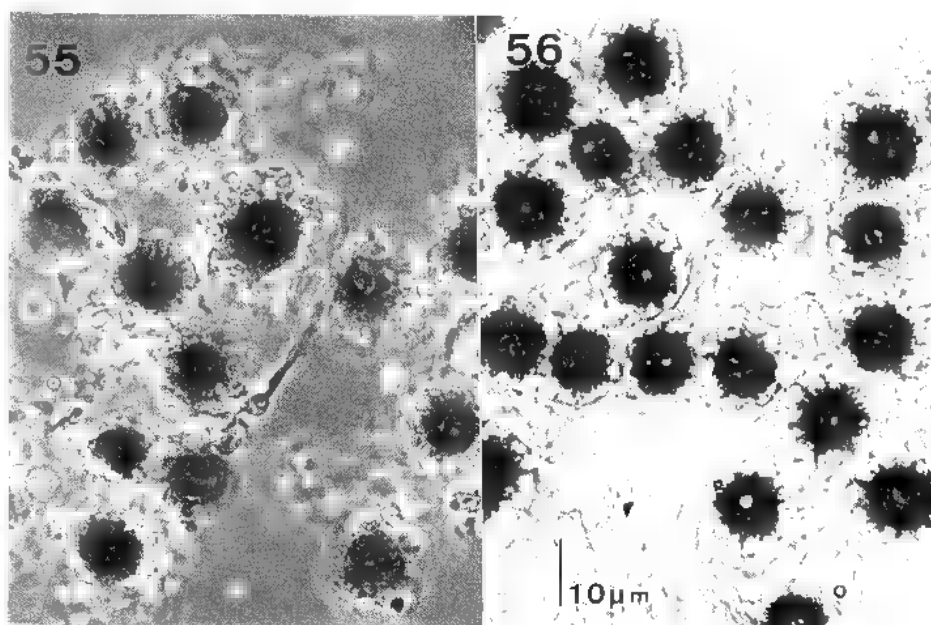


Fig. 55-56. *Scleroderma fuscum* (Corda) Fischer. 55-56: spores.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

We acknowledge the Excmo. Ayuntamiento de Esplugas de Llobregat and the Sociedad Micológica de Esplugas by their invitation to take part in the II and III annual mycological stages. Also to Mr. J. Boada, Mr. Morera and rest of the members of this Society for their warm reception and attention to all these studies. To

Dr. M. Candusso (Saronno, Italy) for his bibliographical collaboration and to Nikon (Rego & Cia) for their advice in the photographic section.

#### BIBLIOGRAPHY

- ANÓNIMO. 1981 - *Catálogo micológico del País Vasco*. San Sebastián, Sec. Micol. Soc. Aranzadi.
- BERTAUX A., 1964 - Campagne mycologique de 1961. Champignons déterminés. *Collect. Bot. (Barcelona)* 6: 457-465.
- BLUM J., 1962 - *Les Bolets*. Paris. P. Lechevalier.
- BON M., 1984 - Novitates 2. *Doc. Mycol. (Lille)* 56: 22.
- BON M., 1988 - Quelques russules des chênaies-vertes et cistaies étudiées au stage "Chêne-vert" de l'Isle-sur-Sorgue - Vaucluse. *Bull. Féd. Mycol. Dauphiné-Savoie* 108: 10-14.
- CALONGE F.D., 1983 - El género *Scleroderma* Pers. (Gasteromycetes) en España. *Rev. Biol.* 12: 49-60.
- CALONGE F.D., 1987 - Algunas novedades micológicas dignas de interés. *Bol. Soc. Micol. Madrid* 11: 253-260.
- CLÉMENÇON H., 1982 - Type studies and typification in *Lyophyllum* (Agaricales). I. Staining species. *Mycotaxon* 15: 67-94.
- DERMEK A., 1987 - *Fungorum Rariorum Icones Coloratae* 17: 1-23. Vaduz, J. Cramer.
- DONELLI G., 1988 - Genere *Russula*: note sulla Sottosezione *Lilacinae* Melz.-Zv. Suppl. di "Il Fungo" 7: 33-51. Assoc. Micol. G. Bresadola-Gruppo Renzo Franchi, Reggio Emilia.
- ESTEVE-RAVENTÓS F., 1987 - Contribución al conocimiento taxonómico, ecológico y corológico del orden Agaricales s.l. (Basidiomycotina) en el Sistema Central (provincias de Madrid y Segovia). Tesis doctoral, Fac. Farmacia, Univ. de Alcalá de Henares, Madrid (España).
- ESTEVE-RAVENTÓS F. y MORENO G., 1990 - Contribución al estudio de los Agaricales del Sistema Central, I. Algunas especies de *Entoloma* (Fr.) Kummer. *Bol. Soc. Micol. Madrid* 14: 143-160.
- HERINK J., 1964 - *Xerocomus moravicus* (Vaecck) Herink, comb. nov. *Ceska Mykol.* 18: 193-203.
- LACOIZQUETA J.M., 1885 - Catálogo de plantas que espontáneamente crecen en el valle de Vertizarana. Criptógamas. *Anales Soc. Esp. Hist. Nat.* 14: 185-238.
- MAIRE R., 1937 - Fungi Catalaunici. Series altera. Contribution à l'étude de la Flore Mycologique de la Catalogne. *Publ. Inst. Bot. Barcelona* 3: 1-128.
- MORENO G. y BARRASA J.M., 1977 - Contribución al estudio de hongos que viven sobre materias fecales (Ia aportación). *Acta Bot. Malacitana* 3: 5-33.
- MORENO G., MANJÓN J.L. y ZUGAZA A., 1986 - *La guía de Incafo de los hongos de la Península Ibérica*. Tomos I y II. Madrid. Ed. Incafo.
- MORENO G. y ESTEVE-RAVENTÓS F., 1988 - Estudios micológicos en el Parque Natural de Monfragüe (Extremadura, España). I. Agaricales. *Bol. Soc. Micol. Madrid* 12: 67-83.



- MORENO G., ESTEVE-RAVENTÓS F. y ILLANA C., 1990 - Estudios micológicos en el Parque Natural de Monfragüe (Extremadura, España). IV. Agaricales. *Bol. Soc. Micol. Madrid* 14: 115-141.
- NOORDELOOS M.E., 1987 - *Entoloma* (Agaricales) in Europe. *Nova Hedwigia* 41: 1-419.
- OLA'H G.M., 1970 - Le genre *Panaeolus*. Essai taxonomique et physiologique. *Rev. Mycol. Mém. H.S.* 10, 273 p.
- ORTEGA A., 1990 - Contribución al estudio del género *Entoloma* (Fr.) Kummer en Andalucía (1a parte). *Bol. Soc. Micol. Madrid* 15: en prensa.
- PÉREZ DEL MORAL E., 1979 - Estudio sistemático del orden Agaricales (Basidiomycetes) en la provincia de Vizcaya y zonas limítrofes. Tesis doctoral, Fac. Farmacia, Univ. Complutense, Madrid (España).
- REID D.A., 1966 - *Coloured Icones of Rare and Interesting Fungi*. Vaduz, J. Cramer, 32 p.
- ROMAGNESI H., 1967 - *Les Russules d'Europe et d'Afrique du Nord*. Paris, Bordas.
- SINGER R., 1982 - Notes on *Russula* taxonomy. I. The Russulae of Catalonia. *Collect. Bot. (Barcelona)* 13: 669-700.
- VELLINGA E.C. and SCHREURS J., 1985 - Notulae ad floram Agaricinam Neerlandicam. VIII. *Persoonia* 12: 337-373.
- WEEKS R.A., SINGER R. and HEARN W.L., 1979 - A new species of *Copelandia*. *J. Nat. Prod.* 42: 469-474.



## CHYTRIDS IN EGYPT: I - SAPROPHYTIC SPECIES OF THE CLADOCHYTRIACEAE FROM WATER STREAMS

Samy K.M. HASSAN

Botany Department, Faculty of Science, Minia University, Minia, Egypt.

**ABSTRACT** - Eighteen zoosporic, polycentric members of saprophytic Cladochytridiaceous fungi belonging to four genera were isolated from water streams in El-Minia Governorate during autumn, winter and spring of 1987 and 1988 on cellulose-rich substrata (sterile baits of onion skin and corn husks). These fungal species flourished and developed within two or three weeks of incubation (21-23°C). Among the species isolated, seven are recorded for the first time in Egypt: *Cladochytrium taianum* Shen & Siang, *Megachytrium westonii* Sparrow, *Nowakowskiella crassa* Karling, *N. macrospora* Karling, *N. pitcairnisensis* Karling, *Septochytrium macrosporum* Karling and *S. marylandicum* Karling.

**RÉSUMÉ** - Dix-huit espèces de Cladochytridiacées saprophytes (4 genres) ont été isolées de rivières du gouvernorat d'El-Minia, en automne, hiver et printemps 1987 et 1988, sur pièges riches en cellulose (pelures d'oignons, téguments de céréales stériles). Ces champignons se développent en 2 ou 3 semaines d'incubation à 21-23°C. Parmi ces espèces, 7 sont nouvelles pour l'Égypte: *Cladochytrium taianum* Shen & Siang, *Megachytrium westonii* Sparrow, *Nowakowskiella crassa* Karling, *N. macrospora* Karling, *N. pitcairnisensis* Karling, *Septochytrium macrosporum* Karling et *S. marylandicum* Karling.

### INTRODUCTION

Cladochytriaceae Schroeter are characterized by a polycentric rhizomycelium which consists of fine or relatively coarse tenuous filaments, intercalary swellings, rhizoids, sporangia and resting spores. In *Cladochytrium* Nowakowski and other genera of this family the sporangia are inoperculate, while in *Nowakowskiella* Schroeter and *Septochytrium* Berdan they are operculate. There are approximately 36 fairly well known species of this family.

Since Sparrow's monograph (1960) chytrids are commonly recognized in the rank of the order Chytridiales (Sparrow, 1973; Batko, 1975; Karling, 1977, 1987; Gupta & Mehrotra, 1989). Barr (1980) studying the ultrastructure of zoospores of Chytridiales divided this order into two emended orders Chytridiales and Spizellomycetales. Dogma (1973) had proposed the "cladochytriod alliance" for this group of chytrids.

So far these fungi have received little attention in Egypt. Gaertner (1954) found three species belonging to this family. Karling (1976), reported four members in the African soil collections. Recently, Elnaghy et al. (1985 a, b; 1987) identified eleven species belonging to the Cladochytriaceae.

Cellulose-containing substrata were used in this study for isolation and subculturing the zoosporic fungi belonging to Cladochytriaceae.

### MATERIALS AND METHODS

As recommended by Willoughby (1961) and Sparrow (1968), samples were collected from shallow water where soil is washed by waves near the banks. Samples were collected from different canals located in El-Minia Governorate, as shown in Fig. 1, from Deir-Mawas, Mallawi, Abo-Qurqas, El-Minia, Samalout, Mattai, Beni-Mazar and Maghaga, monthly during autumn, winter and spring of 1987 and 1988 which are the best seasons for multiplication of the saprophytic zoosporic fungi (Sparrow, 1960). Immediately after collection, 20ml aliquots of water samples were incubated at room temperature (20-23°C), with a cellulose-containing substrate (bits of sterilized onion skin scales, cellophane, bromegrass leaves and corn husks) in sterile 9cm diam. petri dishes. After two or three weeks of incubation, a very rich growth of chytridiaceous fungi was observed. The developing zoosporic fungi were isolated by using the simple routine methods of investigation of zoosporic fungi (10 round small fragments of the baiting substrata were put into each dish containing water samples) as mentioned by Batko (1975), then examined by using an optical microscope in a bright field in fresh stained conditions, at 20 and 40 x objective lens and then drawing under x 600 and x 800 magnifications with a camera lucida and identified according to Sparrow (1960), Batko (1975) and Karling (1977). Isolates of zoosporic fungi were subcultured on the same substrate by using the induction medium of Mendoza & Prendas (1988). Three times of purifications were used for each isolated species, then maintained on the same medium at 5°C and subcultured every one month.

### RESULTS

Fifty-four times of zoosporic fungal isolates belonging to eighteen species of cladochytridiaceous fungi were recorded from eight sites as follows: Maghaga 8, Beni-Mazar 6, Mattai 8, Samalout 11, El-Minia 9, Abo-Qurqas 4, Mallawi 5 and Der-Mawas 3 species; they comprising 44%, 33%, 44%, 61%, 50%, 22%, 28% and 17% of total isolated species, respectively. Samalout was the richest site which contains 11 species representing 61% of total isolated species (11 out of 18). However, the poorest site was Der-Mawas containing 3 species comprising 17% of total number of isolated species.

*Nowakowskiella ramosa* was the most frequent species in all sites. *N. hemisphaerospora* was observed in the present study as the second most frequent cladochytridiaceous fungus recorded in all sites except Der-Mawas.

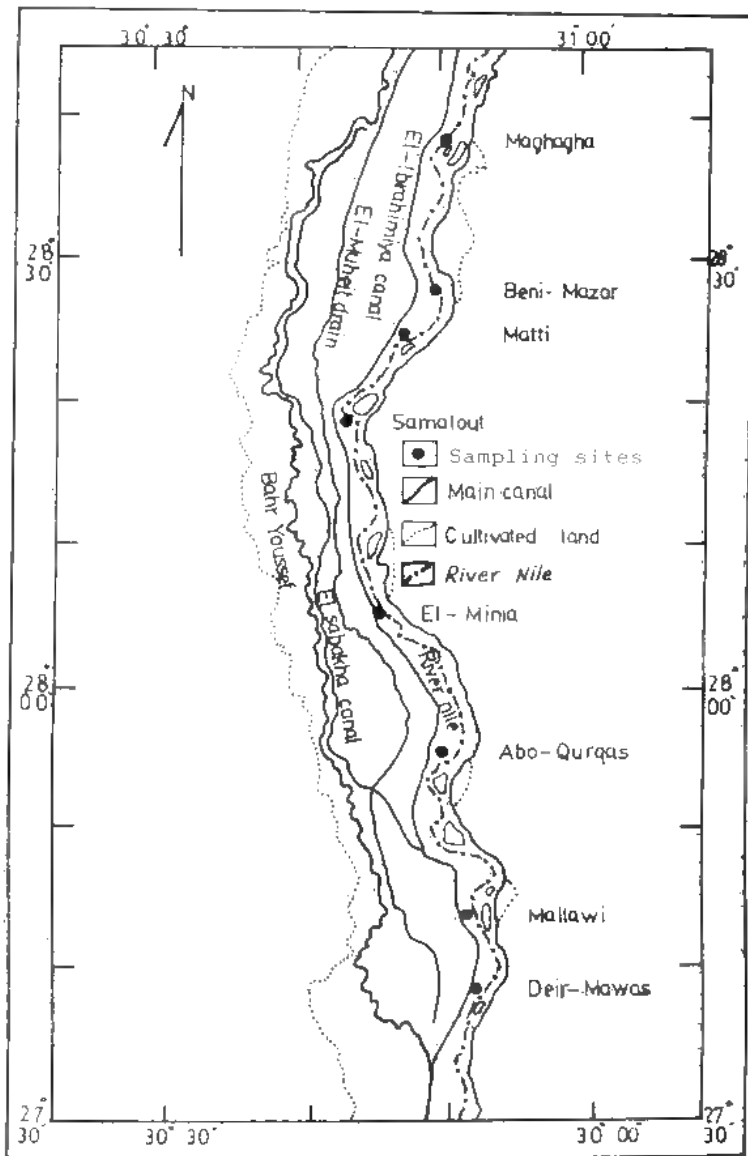


Fig. 1 - Map showing the location of samples collected in El-Minia Governorate.

#### A) Species recorded for the first time in Egypt:

1 - *Cladochytrium taianum* Shen & Siang 1948 (Plate 1).

Rhizomycelium intramatrical and extramatrical, 0.5-3 $\mu$ m wide, branched, often anastomosing, with numerous fusiform swellings 7-10 x

4-8 $\mu$ m; zoosporangia extramatrical, terminal or intercalary, inoperculate, variable in shape and size, globose, subglobose or ovoid, 21-40 $\mu$ m diam.; zoospores hyaline, globose to subglobose, 11 $\mu$ m diam., containing a single refractive body, 6 $\mu$ m diam., posteriorly uniflagellate; resting spores terminal or intercalary, mostly globose, 17-20 $\mu$ m diam., with a single central oil globule, 8 $\mu$ m diam., wall smooth, about 0.8 $\mu$ m thick.

The Egyptian isolate of *C. taianum* matches the original description in all respects except the resting spores. They appear with thicker wall and intercalary occurrence only.

2 - *Nowakowskiella crassa* Karling 1949 (Plate 2).

Rhizoidal system hyaline, profusely branched, usually wide and thick-walled, with numerous nonseptate, subglobose, fusiform swellings, 9-22 x 6-12 $\mu$ m; zoosporangia intramatrical ovoid, terminal, smooth, globose or oval, 22-45 x 16-40 $\mu$ m, operculum 6-9 $\mu$ m diam.; zoospores globose to subglobose, 5-5.5 $\mu$ m diam., with a single refractive globule 1.5 $\mu$ m diam., with a posterior flagellum; resting spores hyaline, smooth, globose, oval, 20-28 x 16-26 $\mu$ m.

The present values of *N. crassa* closely fit the original ones. Resting spores were observed for the first time.

3 - *Nowakowskiella pitcairnsensis* Karling 1968 (Plate 3).

Rhizomycelium profuse, richly branched, tenuous portions 1.5-3.9 $\mu$ m diam., bearing numerous non-septate swellings, narrowly ovoid, fusiform, 8-15 x 4-11 $\mu$ m. Zoosporangia usually terminal, sometimes intercalary, non-apophysate, hyaline, smooth, globose, ovoid, 13-28 x 9-17 $\mu$ m; zoospores, globose, 3-3.3 $\mu$ m diam., with a minute hyaline refractive globule. Resting spores usually abundant, formed from intercalary swelling, fairly thick-walled, light brown filled with coarse granules, smooth, almost globose, 9-10 $\mu$ m diam.

The Egyptian isolate of *N. pitcairnsensis* matches the original description by Karling (1968).

4 - *Nowakowskiella macrospora* Karling 1945 (Plate 4).

Rhizomycelium profuse, richly-branched, fairly coarse, tenuous portions 1.6-6.2 $\mu$ m diam.; sporangia extramatrical, terminal or intercalary, hyaline, smooth, usually apophysate, often slightly flattened, globose, oval, 22-32 x 16-24 $\mu$ m. Zoospores slowly oozing out and forming a globular mass at the orifice, amoeboid shape and mostly globose 10.5 $\mu$ m diam., with a large (3-4.6 $\mu$ m), somewhat disc-shaped refractive globule, and numerous minute granules at the posterior end; flagellum 34-42 $\mu$ m long; resting spores globose, 8.5-9.2 $\mu$ m diam., functioning as germinating prosperangia.

Except for the smaller size of resting spores, all other features of the Egyptian isolate match those of the species.

5 - *Megachytrium westonii* Sparrow 1933 (Plate 5).

Thallus at first entirely extramatrical, later also intramatrical consisting of a profusely branched extensive tubular undulating hypha-like vegetative system, whose main axes are up to  $6-8.5\mu\text{m}$  wide, the smaller ones about  $2.5\mu\text{m}$ , and of numerous terminal or intercalary swelling; sporangia globose or subglobose, with or without a single short exit tube, varying greatly in size, usually about  $27-39 \times 20-34\mu\text{m}$ , sometimes apophysate, rarely proliferating, wall slightly thick, smooth, colourless; zoospores globose,  $5\mu\text{m}$  diam., with a small colourless globule and a  $35\mu\text{m}$  long flagellum; resting spores broadly ovoid,  $20 \times 18\mu\text{m}$ , with a thick smooth wall, filled with globules.

6 - *Septochytrium macrosporum* Karling 1942 (Plate 6).

Thallus predominantly polycentric, occasionally monocentric. Rhizomycelium usually wide, thick-walled, richly branched, rarely septate, venous apart from  $2-13\mu\text{m}$  wide rhizoids; rhizoids numerous and richly branched; intercalary swellings broadly or narrowly spindle, elongate, fusiform and irregular. Zoosporangia terminal or intercalary, delimited by septa, globose, pyriform and sometimes irregular,  $25-70 \times 24-41\mu\text{m}$ , hyaline and smooth. Zoospores globose up to  $11\mu\text{m}$  diam., when fully formed, remaining a few moments in a globular mass at the orifice before swimming away; intermittently amoeboid. Resting spores intercalary, subglobose,  $25-30\mu\text{m}$  diam., with several large refractive globules.

The rhizomycelium and the zoospores of the Egyptian isolate exactly match the original description.

7 - *Septochytrium marylandicum* Karling 1951 (Plate 7).

Rhizomycelium profuse, much branched, rarely septate up to  $5\mu\text{m}$  diam., with broadly or narrowly fusiform or variously shaped intercalary swellings, bearing slender rhizoids. Sporangia predominantly oval, broadly pyriform, sometimes globose  $18-45 \times 16-42\mu\text{m}$ , rarely apophysate, usually with the long axis perpendicular to the rhizoidal axis; discharge tube long, curved, coiled or contorted, simple or branched, occasionally with operculum slightly sunken  $5-13\mu\text{m}$  diam.; zoospores globose,  $4.5-5\mu\text{m}$  diam., with numerous minute refractive granules and up to  $32\mu\text{m}$  long flagellum; resting spores usually terminal, globose up to  $36\mu\text{m}$  diam., with surround hairs, slightly thick-walled, with numerous small oil bodies.

The Egyptian isolate of *S. marylandicum* closely matches the original description. Resting spores are here recorded for the first time.

**B) Species recorded several times in the present study:**

- 1 - *Cladochytrium tenue* Nowakowski 1876.  
[recorded 2 times, representing 3.7% (2 out of 54)]
- 2 - *Cladochytrium aurantiacum* Richards 1956.  
[recorded 4 times, representing 7.4% (4 out of 54)].
- 3 - *Cladochytrium crassum* Hillegas 1941.  
[recorded 2 times, representing 3.7% (2 out of 54)].

- 4 - *Cladochytrium hyalinum* Berdan 1941.  
[recorded 5 times, representing 9.3% (5 out of 54)].
- 5 - *Nowakowskiella delia* Whiffen 1943.  
[recorded 3 times, representing 5.6% (3 out of 54)].
- 6 - *Nowakowskiella elongata* Karling 1944.  
[recorded 5 times, representing 9.3% (5 out of 54)].
- 7 - *Nowakowskiella granulata* Karling 1944.  
[recorded 4 times, representing 7.4% (4 out of 54)].
- 8 - *Nowakowskiella hemisphaerospora* Shanor 1942.  
[recorded 7 times, representing 13% (7 out of 54)].
- 9 - *Nowakowskiella multispora* Karling 1964.  
[recorded 2 times, representing 3.7% (2 out of 54)].
- 10 - *Nowakowskiella ramosa* Butler 1907.  
[recorded 8 times, representing 14.8% (8 out of 54)].
- 11 - *Septochytrium variabile* Berdan 1939.  
[recorded 5 times, representing 9.3% (5 out of 54)].

## DISCUSSION

The Cladochytriaceae now comprise 33 species in 7 genera all over the world. In the present study, 18 species belonging to four genera (*Nowakowskiella* 9, *Cladochytrium* 5, *Septochytrium* 3, *Megachytrium* 1) have been found. Seven were observed here for the first time in Egypt. *Cladochytrium tenue* was recorded in Egypt for the second time.

*Nowakowskiella* represents 50% of total number of the species isolated in this study. Of sixteen species found in different parts of the world (Batko & Hassan, 1982; Hassan & Batko, 1986), over half are now known from Egypt. *Nowakowskiella ramosa*, *N. hemisphaerospora* and *N. macrospora* are the most common and widely distributed species (Sparrow, 1960; Karling, 1968, 1977; Hassan, 1982; Elnaghy et al., 1985b). Karling (1945) clearly pointed out that in *N. macrospora* the typical mode of zoospore discharge is by extrusion of the slightly sunken operculum. This agrees exactly with my own observations. Although Shen & Siang (1948) mentioned an operculum, they did not indicate whether it is a true operculum or an endo-operculum. Most *Nowakowskiella* species are exo-operculate except for *N. granulata* and *N. macrospora* which are endo-operculate. Zoosporangia of *N. multispora* are endo- and exo-operculate.

Twelve species of *Cladochytrium* have been recorded from all over the world (Karling, 1977; Batko & Hassan, 1986). Over 40% of the known species are reported in this study. *C. tenue* and *C. hyalinum* are the most common and widely distributed in water (Sparrow, 1960; Batko, 1975; Hassan, 1982). Striking features of *C. hyalinum* are large oil globule in the zoospores and a strong tendency for extramatrical development. On germination, zoospores of *C. tenue* produce one or two delicate filaments,



which after a few days become elongate and irregularly branched. Resting spores were observed in *C. crassum* after a long time, as described by Karling (1945) and Elnaghy et al. (1987). *C. taianum* is distinguished from *C. tenue* by larger zoospores.

*Septochytrium* Berdan represents 16.7% of the total number of species isolated in this investigation (3 out of 18). At present, five species are known, three of them were found in this study. Willoughby (1964) found that a part of zoospores of *S. marylandicum* develop into a primary zoosporangium and rhizoidal axes. A similar sequence of events has also been observed occasionally in *S. macrosporum*. *S. macrosporum* differs from *S. marylandicum* by its smaller zoospores (4.5-5 $\mu$ m and 10.8-11.2 $\mu$ m diam., respectively).

## REFERENCES

- BARR D.J.S., 1980 - An outline for the reclassification of the Chytridiales, and for a new order, the Spizellomycetales. *Canad. J. Bot.* 58: 2380-2394.
- BATKO A., 1975 - Zarys Hydromikologii. Naukowe Warsaw, Panstwowe Wydawnictwo, 478 p. (outline of Hydromycology I, Polish ed.).
- BATKO A. and HASSAN S.K.M., 1982 - A new *Nowakowskiella* with yellow spotted zoospores, *N. methistemichroma* sp. nov. *Sydowia* 35: 27-36.
- BATKO A. and HASSAN S.K.M., 1986 - *Cladochytrium subsuginosum* sp. nov., zoosporic fungus from Poland. *Acta Mycol.* 22: 189-192.
- DOGMA I.J. jr., 1973 - Developmental and taxonomic studies on rhizophlyctoid fungi. Chytridiales. I. Dehiscence mechanism and generic concepts. *Nova Hedwigia* 24: 393-411.
- ELNAGHY M.A., HASSAN S.K.M. and EL-KOMY H.M., 1985a - Zoosporic fungi in water streams in Upper Egypt. *Proc. Egypt. Bot. Soc.* 4 (conf.): 523-533.
- ELNAGHY M.A., HASSAN S.K.M. and EL-KOMY H.M., 1985b - Some chytrids from water streams in Minia Governorate. *Bull. Fac. Sci., Assiut Univ.*, 14: 17-32.
- ELNAGHY M.A., HASSAN S.K.M. and EL-KOMY H.M., 1987 - Saprophytic Rhizophlyctoid and Cladochyrioid fungi from water canals in Upper Egypt. *Sci. Bull., Minia Univ.*, 1: 77-102.
- GAERTNER A., 1954 - Uber das Vorkommen niederer Erdphycomyceten in Afrika, Schweden und an einigen mitteleuropaischen. *Arch. Mikrobiol.* 21: 1-56.
- GUPTA A.K. and MEHROTRA R.S., 1989 - Seasonal periodicity of aquatic fungi in tanks at Kurukshetra, India. *Hydrobiologia* 173: 219-229.
- HASSAN S.K.M., 1982 - Cladochytriod and Rhizophlyctoid fungi in the Polish mycoflora. Ph. D. Thesis, Inst. Bot. Fac. Biol., Warsaw Univ., 191 p.
- HASSAN S.K.M. and BATKO A., 1986 - *Nowakowskiella keratinophila* sp. nov., a keratinophilic fungus from the brackish water. *Acta Mycol.* 22: 193-196.
- KARLING J.S., 1945 - Brazilian chytrids. V. *Nowakowskiella macrospora* n. sp., and other polycentric species. *Amer. J. Bot.* 32: 29-35.

- KARLING J.S., 1968 - Zoosporic fungi of Oceania. I. *J. Elisha Mitchell Sci. Soc.* 48: 166-178.
- KARLING J.S., 1976 - Additional zoosporic fungi of Africa. *Nova Hedwigia* 27: 747-771.
- KARLING J.S., 1977 - Chytridiomycetorum Iconographia. Vaduz, J. Cramer, 414p.
- KARLING J.S., 1987 - Ross Biological Reserve aquatic fungi III. Additional species. *Nova Hedwigia* 45: 529-535.
- MENDOZA L. and PRENDAS J., 1988 - A method to obtain rapid zoosporogenesis of *Pythium insidiosum*. *Mycopathologia* 104: 59-62.
- SHEN San-Chuic and SIANG W.N., 1948 - Studies in the aquatic Phycomycetes of China. *Sci. Rep. Natl. Tsing Hua Univ., Ser. B, Biol. Sci.*, 3: 179-203, 13 figs.
- SPARROW F.K. jr., 1960 - *The aquatic Phycomycetes*. 2nd ed. Univ. Michigan Press, Ann Arbor, Mich., 1187 p.
- SPARROW F.K. jr., 1968 - Ecology of fresh water fungi. In: AINSWORTH G.C. & SUSSMAN A.S., *The Fungi*. New York & London, Acad. Press, 3: 41-93.
- SPARROW F.K. jr., 1973 - Mastigomycotina (zoosporic fungi). In: AINSWORTH G.C., SPARROW F.K. jr. and SUSSMAN S.S., *The fungi*. New York & London, Acad. Press, 4 B: 61-73.
- WILLOUGHBY L.G., 1961 - The ecology of some lower fungi at Esthwaite water. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 44: 305-332.
- WILLOUGHBY L.G., 1964 - A study of the distribution of some lower fungi in soil. *Nova Hedwigia* 7: 133-150.

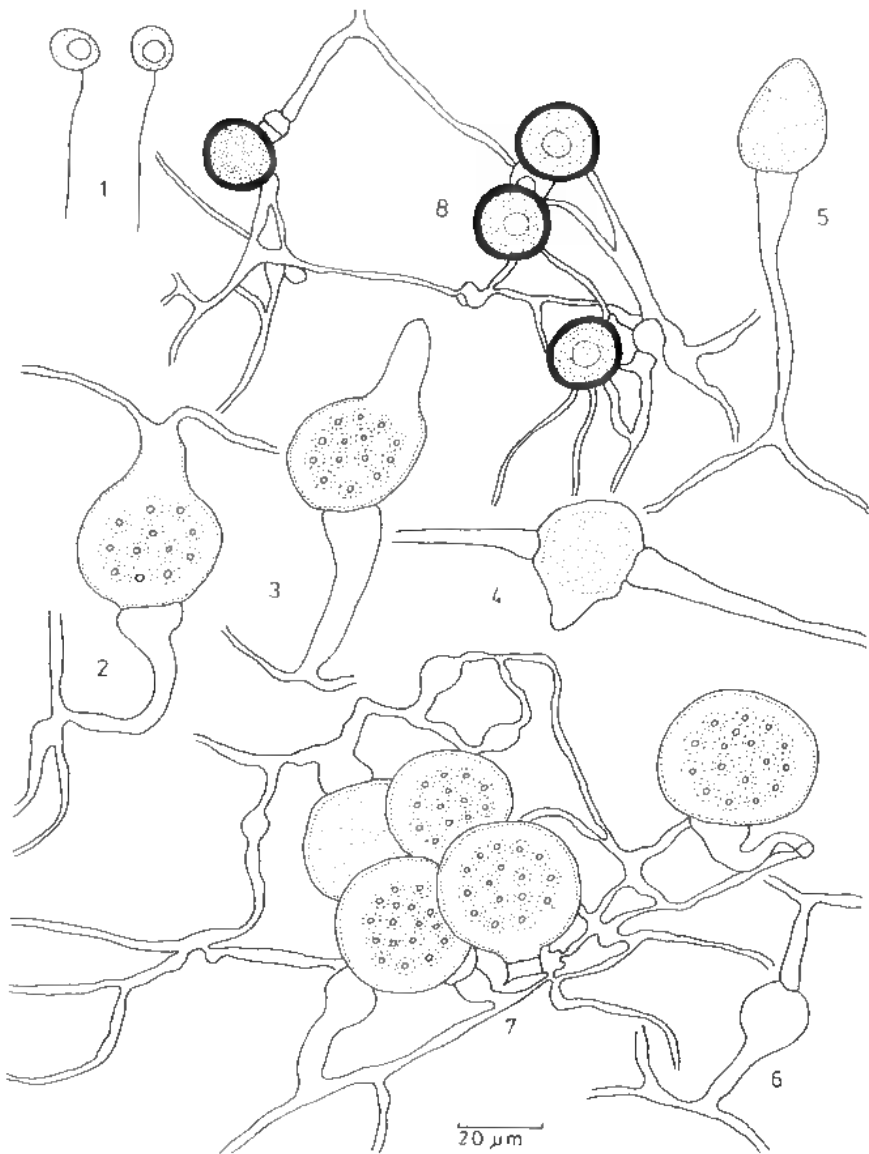


Plate 1, Figs. 1-8: *Cladochytrium taianum*. 1: Zoospores with refractive globule; 2-6: Young terminal and intercalary zoosporangia; 7: Portion of rhizomycelium showing young sporangia and spindle organs; 8: Resting spores with rhizomycelium.

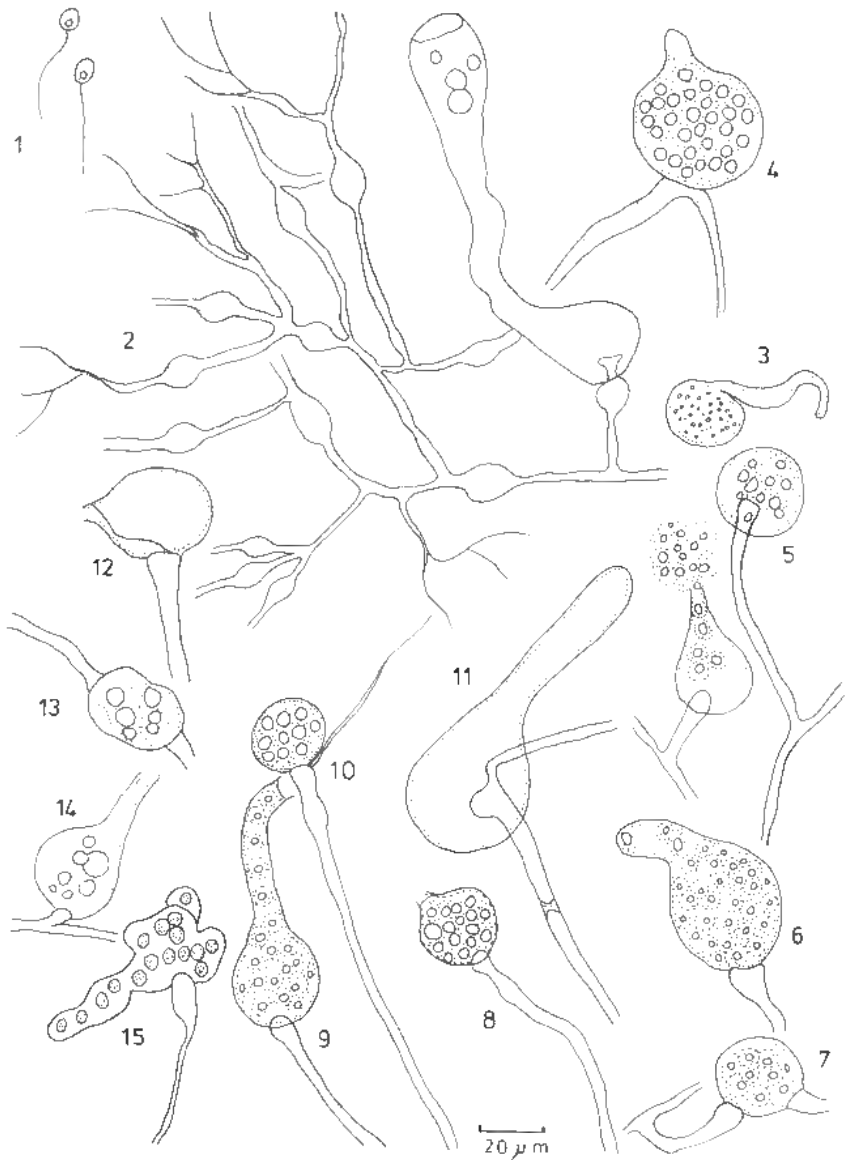


Plate 2, Figs. 1-15: *Nowakowskiella crassa*. 1: Zoospores with refractive globule; 2: Portion of thizomycelium showing spindle organs, elongate sporangium and tapering rhizoidal ends; 3: Zoosporangial germination; 4-10: Different shapes of young sporangia; 11, 12: Empty zoosporangia; 13-15: Resting spores with various shapes.



Plate 3, Figs. 1-5: *Nowakowskiella pitcairnis*. 1: Zoospores with refractive globule; 2, 3: Extensive growth of rhizomycelium showing numerous spindle organs and tenuous rhizoidal system; 4: Portion of rhizomycelium with young zoosporangia; 5: Resting spores with rhizomycelium.

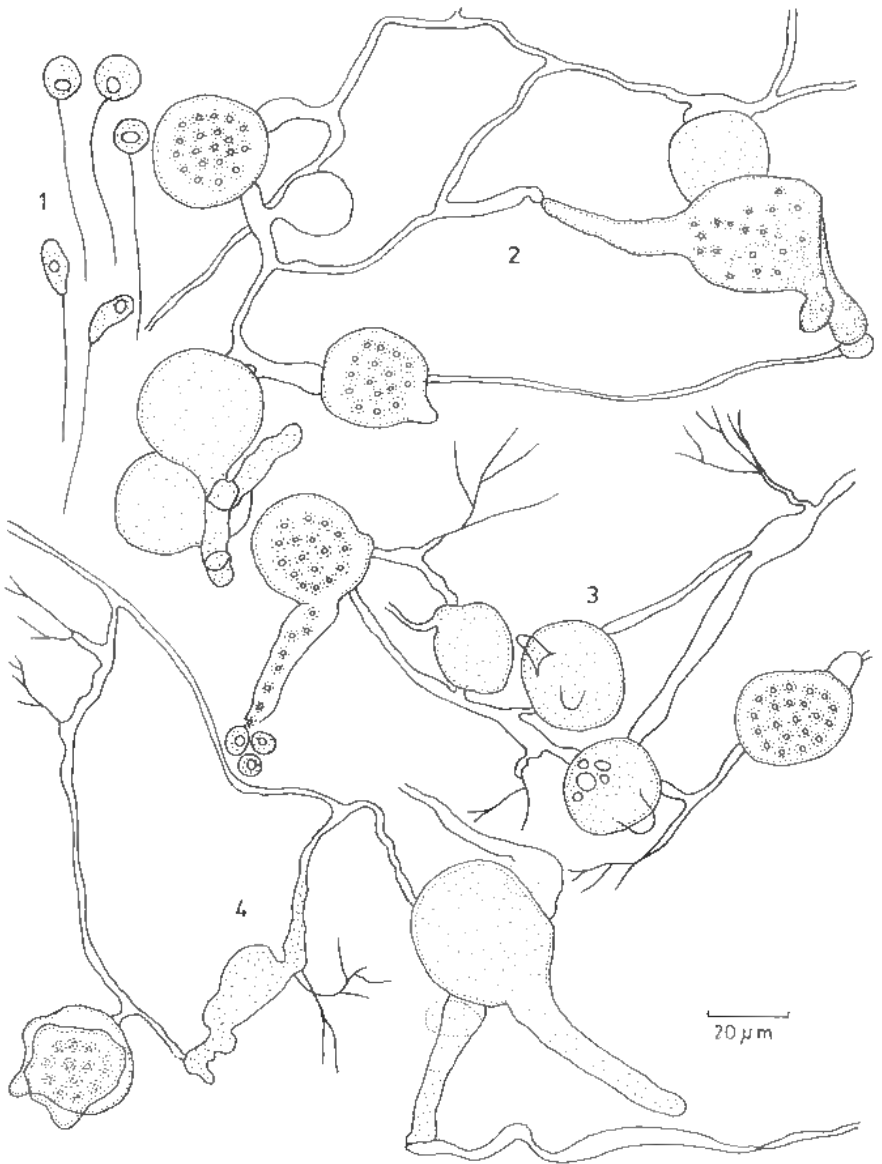


Plate 4, Figs. 1-4: *Nowakowskiella macrospora*. 1: Differently shaped zoospores; 2: Portion of polycentric rhizomycelium with young zoosporangia; 3: Part of rhizomycelium showing operculate sporangium and rhizoidal system; 4: Another portion of rhizomycelium with young sporangium and germinating resting spore.



Plate 5, Figs. 1-3: *Megachytrium westonii*. 1: Zoospores with accentric refractive globule; 2: Portion of polycentric rhizomycelium showing terminal and intercalary zoosporangia and swelling bodies; 3: Extensive growth of rhizomycelium with young and mature sporangia and resting spores.



Plate 6, Figs. 1-3: *Sepochytrium macrosporum*. 1: Zoospores; 2: Extensive growth of rhizomycelium showing different shapes of zoosporangia, spindle organs and some septa; 3: Operculate sporangium.



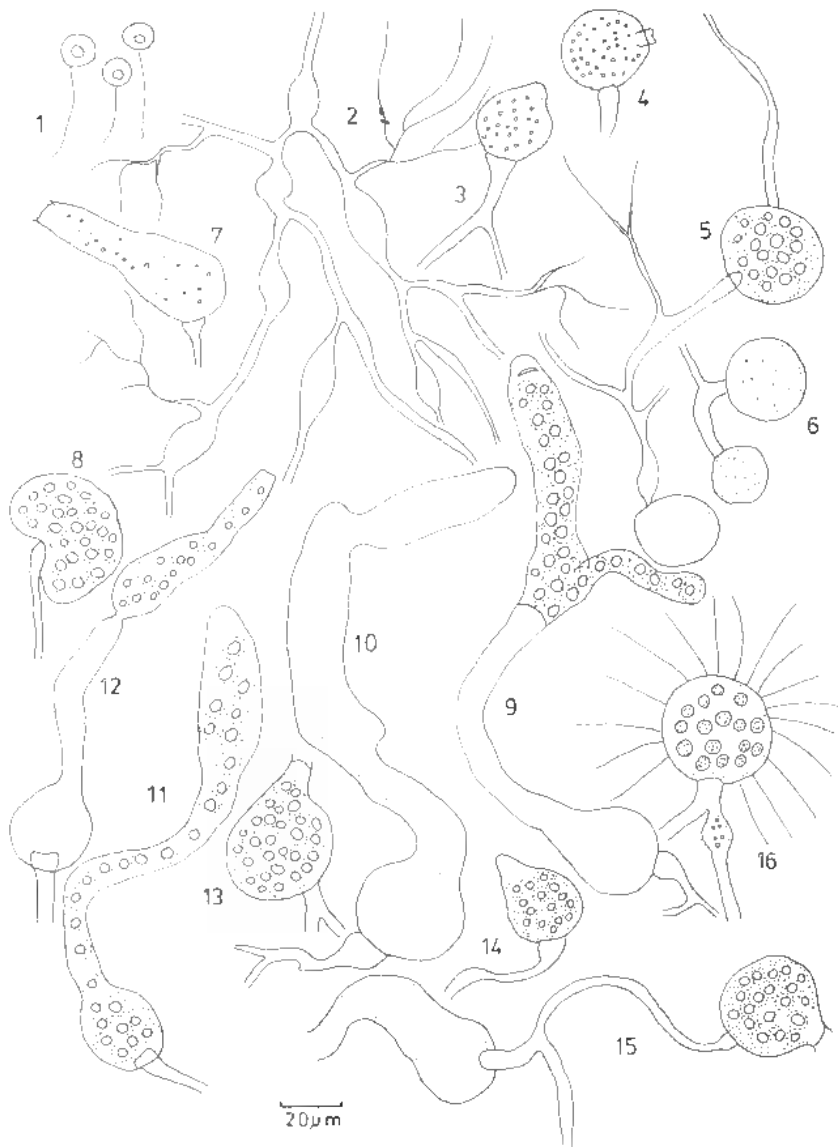


Plate 7, Figs. 1-16: *Septochytrium marylandicum*. 1: Zoospores; 2: Portion of rhizomycelium with spindle organs and tenuous rhizoidal system; 3, 4, 6-8, 13-15: Variously shaped young and mature terminal sporangia; 5: Rhizomycelium with intercalary mature sporangium and terminal young one; 9-12: Four elongate zoosporangia with 1-2 exit tubes; 16: Slightly thick-walled resting spore with hairs.



## CHYTRIDS IN EGYPT: II - NEW RECORDS OF SPECIES OF ENTOPHLYCTIDACEAE

Samy K.M. HASSAN

Botany Department, Faculty of Science, Minia  
University, Minia, Egypt.

**ABSTRACT** - Eight newly recorded species of the Entophlyctidaceae, *Endochytrium digitatum* Karling, *Entophlyctis crenata* Karling, *E. vaucheriae* Fischer, *Diplophlyctis nephrochytrioides* Karling, *D. sexualis* Haskins, *D. verrucosa* Kobayashi, *Nephrochytrium amazonense* Karling and *N. appendiculatum* Karling were isolated and identified from water samples collected from different water streams located in El-Minia Governorate. Isolation and subculturing of these fungi were performed by using sterile cellulosic baits.

**RÉSUMÉ** - Huit espèces d'Entophlyctidacées nouvelles pour l'Égypte: *Endochytrium digitatum* Karling, *Entophlyctis crenata* Karling, *E. vaucheriae* Fischer, *Diplophlyctis nephrochytrioides* Karling, *D. sexualis* Haskins, *D. verrucosa* Kobayashi, *Nephrochytrium amazonense* Karling et *N. appendiculatum* Karling, ont été isolées et identifiées à partir d'échantillons d'eau récoltés dans différentes rivières du gouvernorat d'El-Minia. Ces champignons ont été isolés à l'aide de pièges celluloseux stériles.

### INTRODUCTION

Family Entophlyctidaceae are characterized by monocentric intramatrix thallus, composed of extramatrix zoospore cyst, intramatrix sporangia or resting spores and branched rhizoids. Whiffen (1944) divided this family into two subfamilies, Entophlyctoideae and Diplophlyctoideae, on the basis of whether the zoosporangia and resting spores develop directly from the germ tube or later from an apophysis. In the zoospores of *Entophlyctis* some authors, such as Koch (1968) and Salkin (1970) observed variations in spore size, number and size of lipid bodies.

In Egypt, there is no previous record or evidence of the occurrence of Entophlyctidaceae. The present studies were undertaken to enlarge our knowledge of the Egyptian zoosporic fungi. In this paper 8 species belonging to 4 genera in the Entophlyctidaceae are reported, isolated and identified from water streams in El-Minia Governorate.

## MATERIALS AND METHODS

The materials and methods are the same as in the previous paper (Hassan, 1991).

## RESULTS

All the strains isolated in the present study were recorded once and subcultured on the different cellulose substrates as shown in the materials and methods (Hassan, 1991).

### A) Subfamily Entophlyctidioideae:

#### 1 - *Endochytrium digitatum* Karling 1938 (Plate 1).

Thalli numerous, intramatrical, monocentric, eucarpic. Zoosporangia hyaline and smooth, elongate and obclavate 21-52 x 15-30 $\mu$ m, pyriform 25-140 x 15-53 $\mu$ m, obpyriform, irregular or subglobose and lobed, with one, rarely two simple or branched, curved or straight, tapering exit tubes, 56-98 x 4-10 $\mu$ m; operculum globose or slightly oval, 3-6 $\mu$ m diam. Zoospores hyaline, globose 4.2-5.6 $\mu$ m diam., with one refractive globule, posteriorly uniflagellate, emerging fully formed and singly, and resting in a globular mass a short while before becoming motile, intermittently amoeboid. This strain was baited with bromegrass leaves.

The Egyptian isolate of *E. digitatum* fully matches the original description.

#### 2 - *Entophlyctis crenata* Karling 1967 (Plate 2).

Sporangia intramatrical, single, subglobose or cylindrical with rounded ends, 32-98 x 25-70 $\mu$ m, terminal or intercalary, separated by cross walls from the rhizoidal system, with a single short papilla which penetrates the wall of the substratum, rhizoidal system dichotomously branched, polycentric, the main axis arising from one end or from opposite ends of the sporangium, broad and tubular, up to 5 $\mu$ m diam. Zoospores subglobose to slightly ovoid, 4-6 $\mu$ m diam., with a single globule and numerous small globules, posteriorly uniflagellate emerging upon deliquescence of the papilla and forming a temporary compact motionless mass at the orifice before assuming motility. Resting spores borne like sporangia, globose, up to 49 $\mu$ m diam., with a thickened colourless wall, 1.5-2 $\mu$ m thick. This strain was baited with bromegrass leaves.

Most features of the Egyptian isolate of *E. crenata* match the type except for the resting spores which have a thinner wall and are crenate as in the original description.

#### 3 - *Entophlyctis vaucheriae* Fischer 1892 (Plate 3).

Sporangia intramatrical, globose, 27-39 $\mu$ m diam., with a beak-like or narrowly cylindrical apical exit tube more or less prolonged extramatrically, sporangia smooth, thin-walled and colourless. Rhizoids arising basally from a delicate central axis or occasionally from two places in the lower part of

the body, fairly extensive and much branching with tapering ends. Zoospores globose, 6-7 $\mu$ m diam., with a centric or eccentric colourless globule, a single posterior flagellum, emerging upon deliquescence of the papilla and remaining in a compact motionless mass at the orifice before assuming motility. Resting spores globose, up to 34 $\mu$ m diam., with slightly thickened walls, containing numerous oil globules; germinating in the spring by the swelling of the endospore which bursts the exospore, the former emerging as a subglobose structure within which the zoospores are produced. This strain was baited with corn husks.

The Egyptian isolate of *E. vaucheriae* completely agrees with the original description.

### B) Sufamily Diplophlyctoideae:

#### 4 - *Diplophlyctis nephrochytroides* Karling 1967 (Plate 4).

Asexual monocentric thallus, intramatrical, with branched rhizoidal system. Sporangia apophysate, hyaline, smooth, globose to subglobose, up to 34 $\mu$ m diam., irregular, ovoid, 24-51 x 18-40 $\mu$ m, encysted planospores and germ tube remain attached to the zoosporangium. Rhizoids arising from a basal axis, richly branched and extending up to 160 $\mu$ m. Zoospores subglobose 5-6 $\mu$ m diam., with a large hyaline refractive globule. Resting spores globose, 18-21 $\mu$ m diam., with a thick dark brown wall and a large central globule surrounded by smaller ones; apophysis attached to the central rhizoidal axis and bearing rhizoidal filaments at one end. This strain was baited with gromegrass leaves.

Except for the slightly bigger zoospores in the Egyptian isolate, other morphological features match the original description.

#### 5 - *Diplophlyctis sexualis* Haskins 1950 (Plate 5).

Thalli monocentric, usually intramatrical, consisting of a sporangium or resting spore subtended by an apophysis from which a rather thick-walled, branched rhizoidal system arises. Sporangia variously shaped, hyaline, smooth, up to 30 $\mu$ m diam.; exit tubes one or two, short and broad, dehiscing by deliquescence or by softening of the tips forming an evanescent gelatinous plug, below which is the endo-operculum. Zoospores, 5-5.8 $\mu$ m diam., each with a single refractive globule and a posterior, up to 35 $\mu$ m long flagellum, remaining some time motionless after discharge. Rhizoidal system usually arising from the basal half of the apophysis, stout, extensive and branched. Resting spores globose or slightly oval, 18-22 $\mu$ m diam., contents coarse and globular. This fungus develops well on various cellulolytic substrates, especially cellophane.

Zoospores and resting spores exactly match the original description; sporangia in the Egyptian isolate were slightly smaller than in the original isolate.

#### 6 - *Diplophlyctis verrucosa* Kobayashi & Ookubo 1954 (Plate 6).

Zoosporangia intramatrical, depressed globose, ovoid or ellipsoidal, thin-walled, hyaline, smooth, 27-42 x 16-33 $\mu$ m, with a single apical, basal or

lateral, cylindrical, straight or somewhat curved, 33-87 $\mu$ m long exit tube. Zoospores numerous, hyaline, globose or subglobose, 4.8-6 $\mu$ m diam., with a single refractive globule and a dense cluster of compact granules in one side, with a posterior flagellum; apophysis small; rhizoids basally or bilaterally attached, dichotomously branched. Resting spores globose, up to 28 $\mu$ m diam., with a thick pale yellow wall, containing numerous oil globules; resting spores smooth-walled. This fungus was baited with bromegrass leaves.

The Egyptian strain of *D. verrucosa* matches the original description except for the absence of roughening of resting spores.

7 - *Nephrochytrium amazonense* Karling 1944 (Plate 7).

Thallus monocentric, usually intramatrical, consisting of a sporangium or resting spore, subtended by an apophysis from which an extensive, richly branched rhizoidal system arises. Sporangia hyaline, smooth, pyriform, 30-120 x 13-18 $\mu$ m, or subglobose, 18-43 $\mu$ m diam., exit tube 10-75 $\mu$ m long; tip of the tube swelling and softening to form a plug of hyaline material; a shallow saucer-shaped operculum subsequently developed inside the exit tube. Zoospores emerging when fully developed and forming a globular mass at the orifice before dispersing; zoospores globose, 6-6.5 $\mu$ m diam., with a large refractive globule, posterior flagellum up to 40 $\mu$ m long. Apophysis oval, flattened, obpyriform, 5-26 x 4-12 $\mu$ m. Rhizoidal system arising from the base of the apophysis, richly branched, up to 156 $\mu$ m long. Resting spores oval, somewhat bean-shaped, 29-42 x 25-35 $\mu$ m, subglobose, 24-28 $\mu$ m diam., and sometime irregular, smooth-walled, functioning as prosperangia on germination. This fungus was baited with onion skin scales.

The Egyptian isolate matches the original description.

8 - *Nephrochytrium appendiculatum* Karling 1938 (Plate 8).

Zoosporangia numerous, intramatrical, hyaline, smooth, subglobose, flattened, dispersed, somewhat kidney-shaped, 33-68 x 8-20 $\mu$ m, with 1-2 exit papillae or tubes of varying length. Zoospores hyaline, globose, 3.5-4.2 $\mu$ m diam., with a large clear refractive globule; posterior flagellum up to 33 $\mu$ m long. Apophysis elongate, transverse, usually spindle-shaped, 15-21 x 6-10 $\mu$ m; rhizoids arising from the end of the apophysis. Resting spores smooth, globose, flattened, occasionally obpyriform, 9-18 x 6-9 $\mu$ m, thick-walled, containing some refractive globules. This fungus was baited with onion skin scales.

The Egyptian isolate perfectly matches the original description.

## DISCUSSION

Eight species belonging to four genera of the Entophlyctidaceae were isolated and identified. All were recorded for the first time in Egypt.

The subfamily Entophlyctidoideae includes the genera *Entophlyctis* Fischer which comprises 13 species and *Endochytrium* Sparrow (7 species). Two species of *Entophlyctis*, *E. crenata*, *E. vaucheriae* and one of

*Endochytrium*, *E. digitatum* were recorded in the present study. Karling (1977) had observed resting spores in *E. crenata* and *E. vaucheriae* and they were also found here. *Endochytrium* is the operculate counterpart of *Entophlyctis*; its species are weakly parasitic in green algae or saprophytic in cellulosic substrata and eggs or cysts of microscopic animals.

The subfamily Diplophlyctidoideae includes the genera *Diplophlyctis* Schroeter (7), *Nephrochytrium* Karling (6) and *Rhizosiphon* Scherffel (3 species). The thallus is monocentric and eucarpic. The enlargement of the germ tube usually becomes an apophysis, which functions as a prosperangium in most species of genera *Diplophlyctis* and *Nephrochytrium* (Karling, 1977). Dogma (1973) proposed two phylogenetically related groups of chytrids, the "rhizophlyctoidal alliance" and the "cladochytrioidal alliance". Because of the comparable degree of natural characters, Hassan (1983) suggested a third one, the "diplophlyctoidal alliance". The core of this alliance may be delimited by the complex of genera *Diplophlyctis* and *Nephrochytrium*.

*Diplophlyctis* had been characterized as intramatrical, with inoperculate sporangia, but Karling (1977) pointed out that *Diplophlyctis sexualis* appears to be endo-operculate. My observations of *D. sexualis* confirm this. The observation by Haskins (1950), Sparrow (1960) and Karling (1977) that zoosporangium and apophysis develop from a branch of the germ tube in *D. sexualis* was also confirmed in the present study.

Ookubo (1954) observed a fine ornamentation of the resting spore wall in *Diplophlyctis verrucosa*. But, Karling (1977) found that *D. verrucosa* isolated in Iceland was much more regular in shape and growth density, and also the sporangia and resting spores were generally smaller. *D. verrucosa* can parasitize *Chara*; in Iceland, the fungus was found to be saprophytic. The Egyptian isolate in all features matched that from Iceland.

*Nephrochytrium* has been created by Karling (1938) for a new saprophytic operculate member of Chytridiales occurring on dead or moribund cells of *Chara* and *Nitella*. *N. appendiculatum* was the first species described. Two strains of this genus were recorded in the present study, *N. amazonense* and *N. appendiculatum*. For both species, Karling (1977) illustrated the terminal branches running out to fine filaments and points. Moreover, he added that the resting spores in these two species are borne in the same manner as the sporangium. All these features were observed in the two Egyptian isolates as well.

#### REFERENCES

- DOGMA I.J. jr., 1973 - Developmental and taxonomic studies on rhizophlyctoid fungi, Chytridiales. I. Dehiscence mechanism and generic concepts. *Nova Hedwigia* 24: 393-411.
- HASKINS R.H., 1950 - Studies on the lower Chytridiales. II. Endo-operculation and sexuality in the genus *Diplophlyctis*. *Mycologia* 42: 772-778.
- HASSAN S.K.M., 1983 - Two new chytrids from the environments of Warsaw. *Nova Hedwigia* 38: 727-740.

- HASSAN S.K.M., 1991 - Chytrids in Egypt: I - Saprophytic species of the Cladochytriaceae from water streams. *Cryptogamie, Mycol.* 12: 211-225.
- KARLING J.S., 1938 - A new chytrid genus. *Nephrochytrium*. *Amer. J. Bot.* 25: 211-215.
- KARLING J.S., 1977 - Chytridiomycetorum Iconographia. Vaduz, J. Cramer, 414 p.
- KOCH W.J., 1968 - Studies of the motile cells of chytrids. IV. Planonts in the experimental taxonomy of aquatic Phycomycetes. *J. Elisha Mitchell Sci. Soc.* 84: 69-83.
- OOKUBO M., 1954 - Studies on the aquatic fungi in the moors and ponds of Hakkoda. *Nagaoa* 4: 48-60.
- SALKIN I.F., 1970 - *Allochytridium expandens* gen. and sp. n.: growth and morphology in continuous culture. *Amer. J. Bot.* 57: 649-658.
- SPARROW F.K. jr., 1960 - *The aquatic Phycomycetes*. 2nd ed. Univ. Michigan Press, Ann Arbor, Mich., 1187 p.
- WHIFFEN A.J., 1944 - A discussion of taxonomic criteria in the Chytridiales. *Fartlowia* 1: 583-597.





Plate 1, Figs. 1-13: *Endochytrium digitatum*. 1: Zoospores; 2-5, 8, 12, 13: Differently shaped zoosporangia; 6: Elongate zoosporangium with curved exit tube; 7: Operculate sporangium with short lateral papilla; 9, 11: Intercalary zoosporangia; 10: Subglobose sporangium with long exit tube.

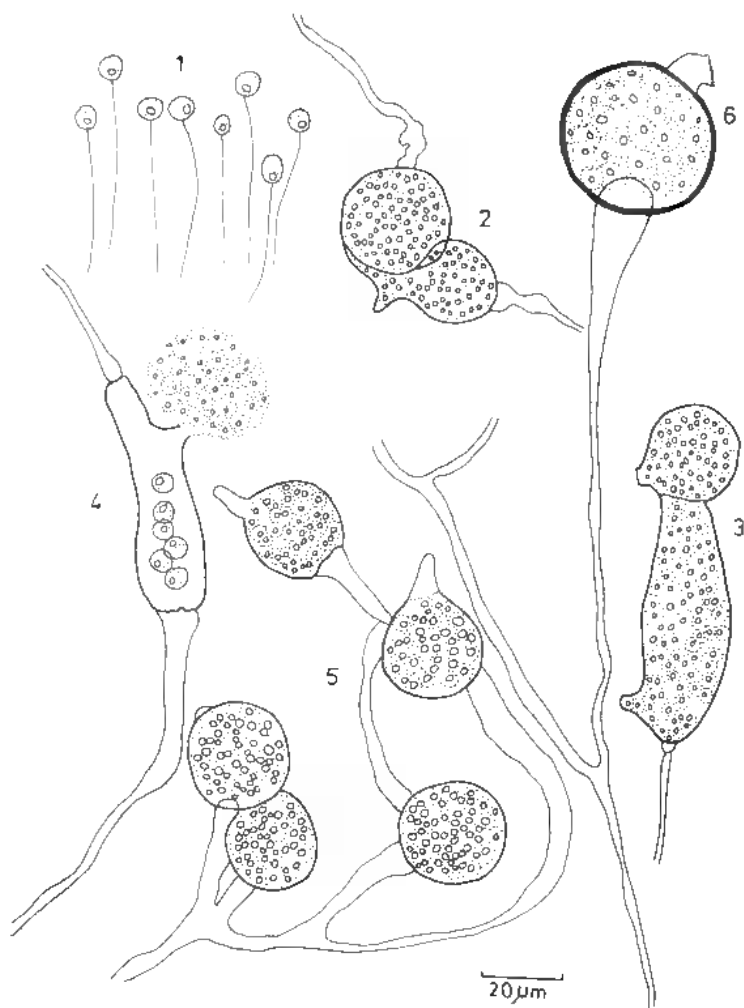


Plate 2, Figs. 1-6: *Entophlyctis crenata*. 1: Zoospores with refractive globule; 2: Intercalary young sporangia; 3: Long cylindrical sporangium with two short papillae; 4: Mature operculate sporangium; 5: Terminal subglobose zoosporangia; 6: Mature resting sporangium with refractive globules.

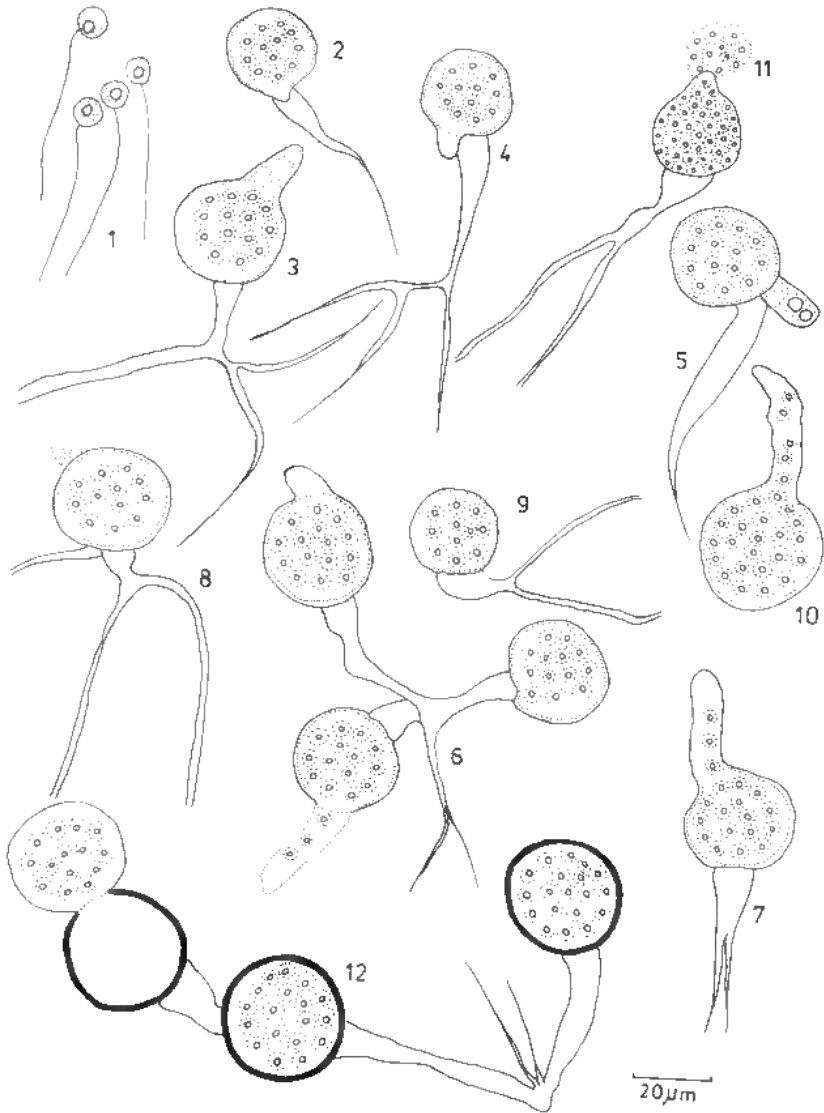


Plate 3, Figs. 1-12: *Entophlyctis vaucheriae*. 1: Zoospores with refractive globule; 2-7: Differently shaped young vacuolate zoosporangia with short tapering rhizoidal axes; 8, 9: Two young sporangia with rhizoidal axis; 10: Sporangium with long exit tube; 11: Operculate zoosporangium; 12: Thick-walled resting spores, one germinating.

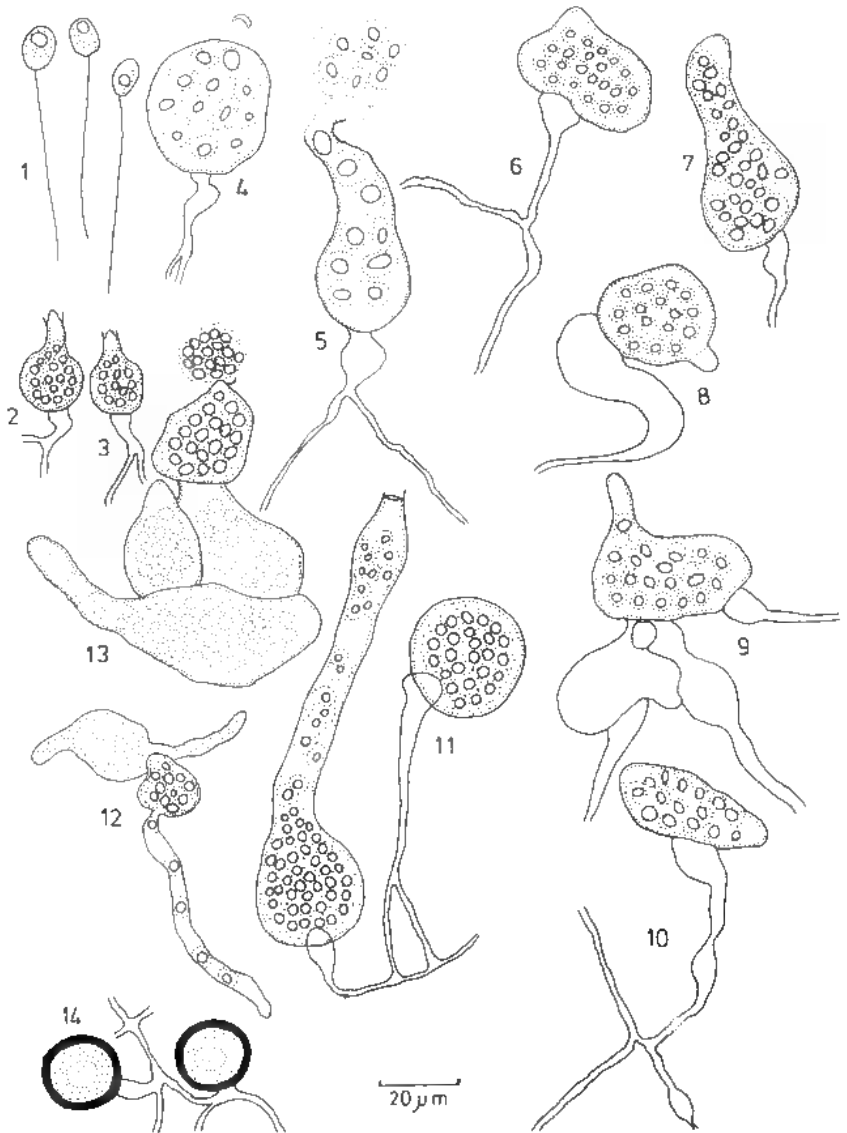


Plate 4, Figs. 1-14: *Diptophlyctis nephrochrytioides*. 1: Zoospores with refractive globule; 2, 3: Young zoosporangia; 4, 5: Mature operculate sporangia; 6-11: Different shapes of apophysate zoosporangia with branched rhizoidal axes; 12, 13: Mature sporangia with germ tube. 14: Resting spores with thick dark-brown wall and central large globule.

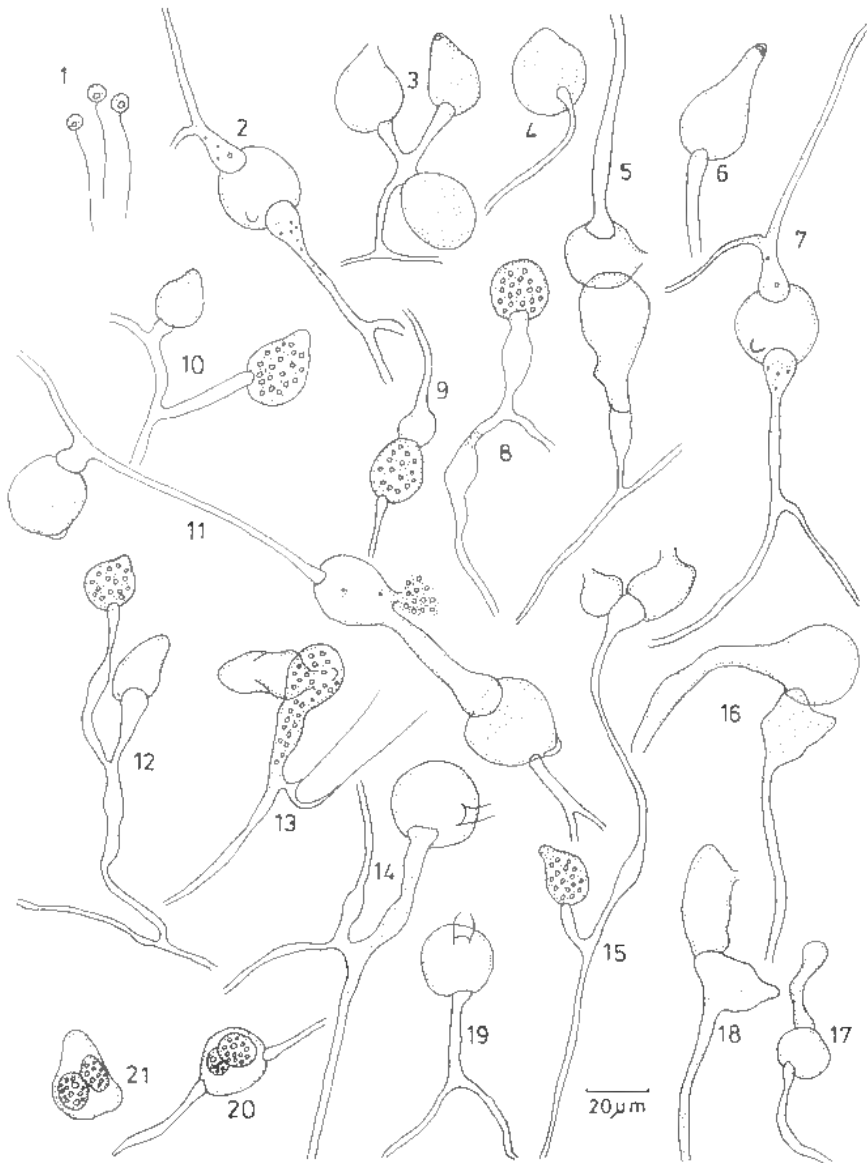


Plate 5, Figs. 1-21: *Diplophlyctis sexualis*. 1: Zoospores; 2-10: Terminal and intercalary apophysate zoosporangia; 11: Mature operculate and young papillate sporangia; 12-19: Empty and young variously shaped sporangia with branched rhizoidal axes; 20, 21: Resting spores of different shapes.



Plate 6, Figs 1-11: *Diplophlyctis verrucosa*. 1: Zoospores with one large and numerous small refractive globules; 2-4: Three young sporangia with long exit tubes and branched rhizoidal axes; 5-8: Young ellipsoidal sporangia; 9: Mature sporangium; 10: Germinating resting spore; 11: Spherical resting spore.

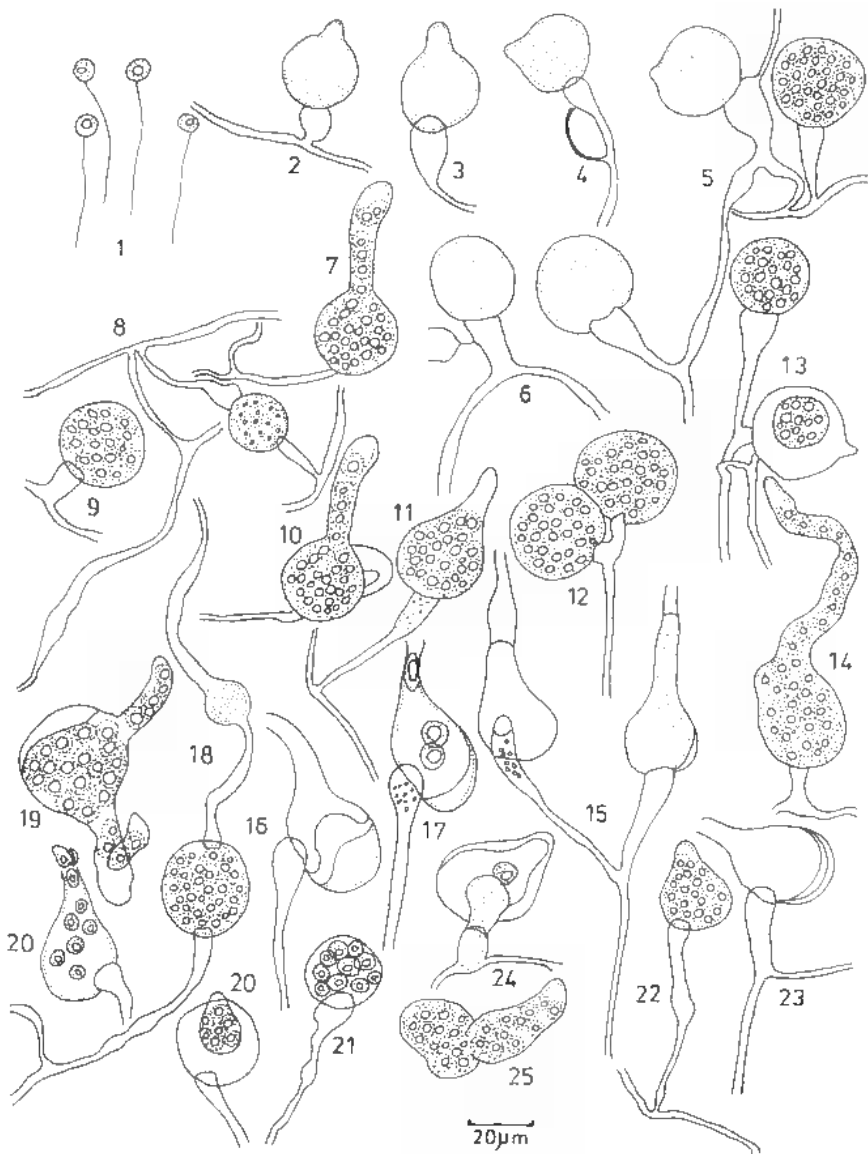


Plate 7, Figs 1-25: *Nephrochytrium amazonense*. 1: Zoospores; 2-6: Young apophysate sporangia; 7-14, 18-22: Mature differently shaped apophysate sporangia; 15, 16: Young and empty apophysate sporangia; 17: Operculate zoosporangium; 23, 24: Differently shaped resting spores; 25: Germinating resting spore.

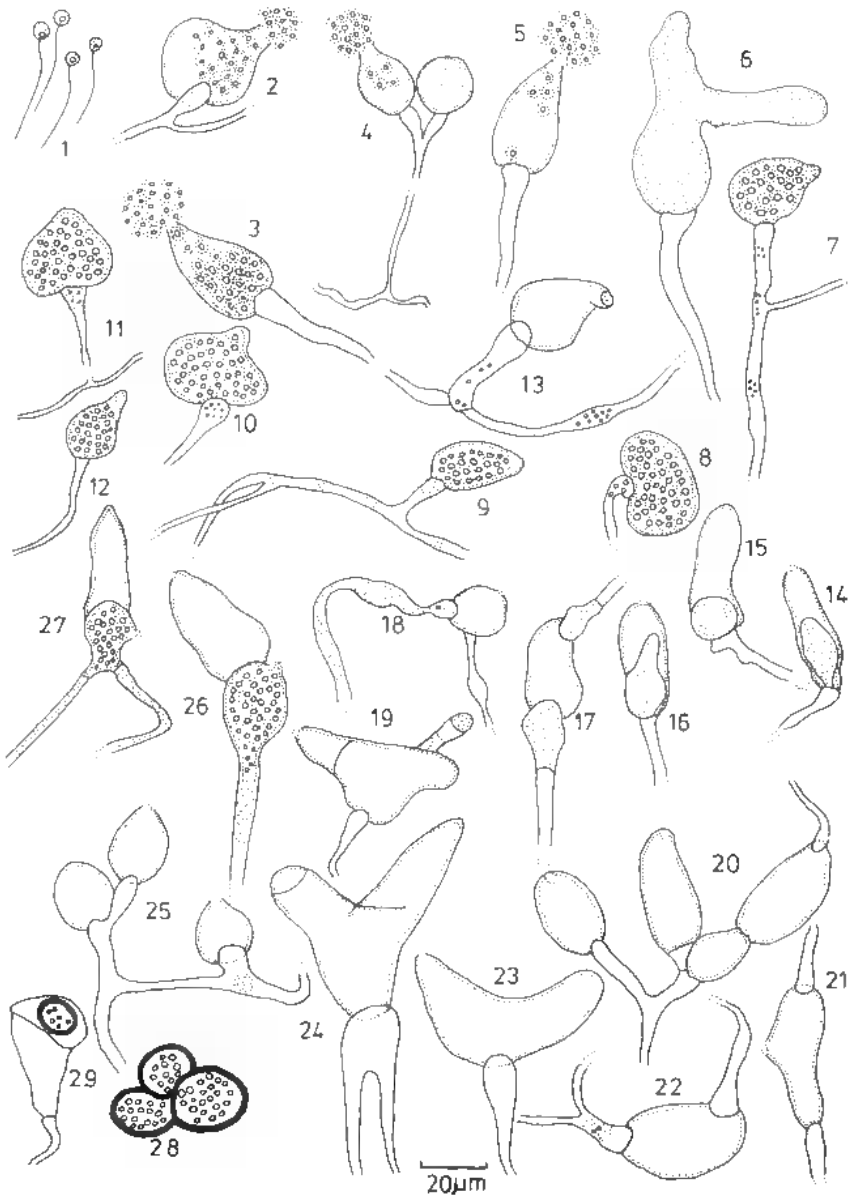


Plate 8, Figs. 1-29: *Nephrochytrium appendiculatum*. 1: Zoospores; 2-5: Operculate zoosporangia; 6: Young sporangium with two exit tubes; 7-12: Differently shaped mature zoosporangia; 13-17, 19-25: Apophysate sporangia; 18: Empty sporangia; 26, 27: Germinating sporangia; 28, 29: Thick-walled resting spores.



## ANALYSES BIBLIOGRAPHIQUES

RIVA A., 1988 - *Tricholoma* (Fr.) Staude. *Fungi Europaei* n°3. Italie, 21047 Saronno, Libreria editrice Giovanna Biella, 618 p., fig., 24 phot. col., 90 pl. col. (texte en italien; certaines indications et de brèves descriptions en anglais et en allemand).

Le genre *Tricholoma*, tel qu'il est actuellement envisagé, ne correspond qu'à une partie du vaste groupe délimité sous cette appellation par E.M. Fries. Il reste néanmoins important et, pour l'Europe occidentale seule, comprend environ 70 espèces auxquelles est consacré le troisième volume de la série - toujours de très haute qualité - des *Fungi Europaei*.

Dans des généralités étayées par la reproduction de nombreux documents, l'Auteur rend compte avec minutie des différentes conceptions qu'ont eues des mycologues comme Fries bien évidemment, mais aussi Quélet, vis-à-vis des tricholomes et de leur classification. La deuxième partie de l'ouvrage propose des notes bibliographiques et taxinomiques sur les onze genres: *Lyophyllum*, *Melanoleuca*, *Rhodopaxillus*, *Rhodocybe*..., séparés du genre *Tricholoma* de 1881 jusqu'en 1975. Pour chacun de ces genres, une planche en couleurs illustre les caractéristiques d'une espèce prise comme exemple.

Avec une iconographie remarquable réalisée par Aurel Dermek et Ernesto Rebaudengo, accompagnée d'une description succincte des basidiocarpes, la troisième partie du travail, et la plus longue aussi, traite des espèces. Les particularités des tricholomes sont examinées en détail et des clés d'identification établies tandis qu'est présentée la classification adoptée dans l'ouvrage et inspirée par celle de Marcel Bon.

Le lecteur appréciera les analyses descriptives comme les informations multiples et précises dont il disposera grâce à cette monographie qui lui permettra de mieux connaître ces champignons souvent répandus, mais souvent aussi difficiles à identifier exactement. Ce sera également l'occasion pour l'utilisateur de comparer - notamment au point de vue nomenclatural - cette étude avec d'autres sources documentaires, assez rares il est vrai, concernant les Tricholomes.

J. Perreau

CANDUSSO M. & LANZONI G., 1990 - *Lepiota* s.l. *Fungi Europaei* n° 4. Italie, 21047 Saronno, Libreria editrice Giovanna Biella, 744p., 133 fig., 80 pl. col. (texte en italien; introduction et clé traduites en anglais).

Les champignons connus sous le nom général de lépiotes font l'objet de cette monographie abondamment illustrée. Plus précisément, y sont étudiés les représentants européens non seulement du genre *Lepiota* au sens strict mais également ceux des genres *Melanophyllum*, *Cystolepiota*, *Chamaemyces*, *Leucoagaricus*, *Leucocoprinus* et *Macrolepiota*. L'ensemble réunit ainsi près de 200 taxons dont quelques-uns sont décrits comme nouveaux.

La majeure partie de l'ouvrage se rapporte à l'analyse des espèces classées selon les genres et leurs subdivisions présentées au préalable dans des clés principalement basées sur la couleur des sporées et les caractéristiques sporales. Pour chaque espèce, on trouve donc: noms d'auteurs de la combinaison, synonymies, références iconographiques, diagnose originale, énumération des caractères macro- et microscopiques, notes sur l'habitat, observations diverses et une planche de dessins au trait détaillant la morphologie des éléments de l'hyménium et du revêtement pileux.

Toutes ces indications sont complétées par de superbes planches en couleurs dues aux talents respectifs d'Aurel Dermek et d'Ernesto Rebaudengo dont les oeuvres iconographiques consacrées aux champignons sont célèbres par leur beauté et leur vérité.

Bien évidemment pourvue des indispensables index, la monographie expose les traits distinctifs devant être observés chez les lépiotes; elle retrace aussi l'histoire taxinomique du groupe et évoque même les toutes premières mentions de ces champignons alors que la Mycologie en était encore à ses balbutiements.

Les mycologues qui s'intéressent aux Agaricales se devront d'enrichir leur documentation avec ce livre qui leur apportera d'utiles données de comparaison avec d'autres travaux sur le sujet; peut-être même seront-ils, grâce à lui, tentés par l'étude des lépiotes si nombreuses sous d'autres climats, par exemple tropicaux.

J. Perreau

Gary G. SAMUELS and collaborators, 1990 - Collaboration toward a mycobiota of Indonesia: Hypocreales, Synnematosus Hyphomycetes, Aphyllophorales. *Memoirs of the New York Botanical Garden*, vol. 59, 180 p.

Ce fascicule contient les résultats d'un inventaire préliminaire de la mycoflore d'Indonésie, effectué à partir de collectes effectuées en forêt tropicale du Sulawesi Nord et d'échantillons d'herbiers locaux (en particulier du Jardin botanique de Bogor) ou antérieurement collectés dans la région.

Un premier article très volumineux (100 pages), traite des Hypocréales (G.J. Samuels, Y. Doi & C.T. Rogerson). Soixante quinze espèces dont 7 tétéomorphes, un anamorphe et un nom nouveaux sont décrits ou redécrits dans neuf genres et inclus dans des clefs. Les descriptions reposent sur du matériel collecté sur place mais on trouve aussi des redescriptions d'espèces décrites en Indonésie par Hennings, Hohnel, Libert ou Penzig et Saccardo. Les nouvelles espèces *Hypocrea sulawesensis*, *H. conispora*, *Hypomyces sibirinae* (anamorphe *Sibirina variosperma*), *Nectria macrarenula*, *N. macrochaetopsinae*, *N. macrojungneri*, *N. balansae* et *N. viliscula* sont proposées.

L'article sur les Hyphomycètes corémiés (46 pages) est rédigé par K. Seifert. Il est basé principalement sur des échantillons d'herbier détenus au Jardin Botanique de Bogor et inclut les espèces décrites par Penzig et Saccardo. Il comporte 56 espèces dont deux nouvelles (*Cornutostilbe medusae* et *Stilbella pseudobambusae*), un nouveau genre *Cornutostilbe* et une nouvelle combinaison: *Podosporium beccarianum*. Comme pour les Hypocréales de l'article précédent, on trouve des clefs dichotomiques et synoptiques des taxons.

Trente huit espèces, dont une nouvelle (*Rigidoporus pendulus*) réparties dans 29 genres d'Aphyllophorales ont été identifiées à partir de récoltes locales, décrites par L. Ryvarden et annotées en référence avec les Polypores de l'Est Africain. Des clefs dichotomiques sont également proposées dans cet article d'une dizaine de pages.

Sept espèces de Phragmobasidiomycètes réparties dans six genres et sept espèces de Myxomycètes sont enfin rapportées dans des listes proposées respectivement par B. Lowry & M.L. Farr.

Commission paritaire n° 58611

Dépôt légal n° 15714 - Imprimerie de Montligeon

Sortie des presses le 20 septembre 1991

Imprimé en France

Éditeur : A.D.A.C. (Association des Amis des Cryptogames)

Président : R. Baudoin; Secrétaire : D. Lamy

Trésorier : J. Dupont; Directeur de la publication : H. Causse



# CRYPTOGAMIE – MYCOLOGIE

## BUREAU DE RÉDACTION

- MM. DURRIEU G., pour les articles traitant d'Écologie et de Phytopathologie  
Laboratoire de Botanique, Faculté des Sciences,  
Allées Jules Guesde, 31 000 Toulouse (France).
- JOLY P., pour les articles traitant de Systématique  
Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle  
12, rue de Buffon, 75005 Paris (France).
- MANACHERE G., pour les articles traitant de Physiologie  
Laboratoire de Mycologie, Université de Lyon I,  
43, Bd du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex (France).
- Mmes ZICKLER D., pour les articles traitant de Cytologie  
Laboratoire de Génétique, Université de Paris Sud,  
Bât. 400, Centre d'Orsay, 91405 Orsay (France).
- ROQUEBERT M.F., s'occupera des autres spécialités.  
Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle  
12, rue Buffon, 75005 Paris (France).

## COMITÉ DE LECTURE

- |  |                                    |
|--|------------------------------------|
| BOLIDIN J., Lyon (France)                    | MONTANT Ch., Toulouse (France)     |
| CHEVAUGEON J., Orsay (France)                | MOREAU Cl., Brest (France)         |
| GAMS W., Baarn (Hollande)                    | PEGLER D.N., Kew (Grande-Bretagne) |
| HENNEBERT G., Louvain-la-Neuve<br>(Belgique) | SUTTON B., Kew (Grande-Bretagne)   |
| LACOSTE L., Paris (France)                   | TURIAN G., Genève (Suisse)         |

Les manuscrits doivent être adressés (en 2 exemplaires) directement à un membre du Bureau de Rédaction, choisi pour sa spécialité. Le Bureau peut demander l'avis d'un lecteur choisi pour sa spécialité, même s'il n'appartient pas au Comité de lecture.

Bien qu'étant avant tout une revue de langue française, les articles rédigés en Anglais, Allemand et Espagnol sont acceptés.

Les recommandations aux auteurs sont publiées dans le 1er fascicule de chaque tome.



## ABONNEMENTS A CRYPTOGRAMIE

Tome 13, 1992

CRYPTOGRAMIE comprend trois Sections:

Algologie - Biologie-Lichénologie - Mycologie

Abonnement à l'une ou l'autre Section pour 1992

France (326 F. ht) 332,85 F. TTC  
Etranger (326 F. ht) 337,00 F.

Abonnement aux 3 Sections pour 1992

France (918 F. ht) 937,28 F. TTC  
Etranger (918 F. ht) 1001,00 F.

Les anciens tomes et fascicules séparés de la REVUE DE MYCOLOGIE et de CRYPTOGRAMIE MYCOLOGIE sont toujours disponibles.

### MÉMOIRES HORS SÉRIE

- N° 2 (1942) **Les matières colorantes des champignons**, par L. Pastac. 88 pages - 15 F.  
N° 3 (1943) **Les constituants de la membrane chez les champignons**, par R. Ulrich. 44 pages - 15 F.  
N° 6 (1958) **Essai biotaxonomique sur les Hydnés résupinés et les Corticiés**, par J. Roudin. 390 pages, pl. et fig. - 120 F.  
N° 7 (1959) **Les champignons et nous (Chroniques) (II)**, par G. Becker. 94 pages - 25 F.  
N° 8 (1966) **Catalogue de la Mycothèque de la Chaire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire Naturelle (I). Micromycètes. Macromycètes (première partie)**, 68 pages - 25 F.  
N° 9 (1967) **Table des Matières (1936-1965)**, 85 pages - 20 F. - (1966-1975), 30 pages - 10 F.

### FLORE MYCOLOGIQUE DE MADAGASCAR ET DÉPENDANCES publiée sous la direction de M. Roger HEIM

- Tome I Les Lactario-Russulés, par Roger Heim (1938) (épuisé)  
Tome II Les Rhodophylles, par Henri Romagnesi (1941) 164 pages, 46 fig. - 90 F.  
Tome III Les Mycènes, par Georges Metrod (1949) 144 pages, 88 fig. - 90 F.  
Tome IV Les Discomycètes de Madagascar, par Marcelle Le Gal (1953) 465 pages, 172 fig. - 150 F.  
Tome V Les Uredinees, par Gilbert Bouriquet et J.P. Bassino (1965) 180 pages, 97 fig., 4 pl. hors-texte - 90 F.

#### Reglements :

- par virement postal au nom de A.D.F.C. - CRYPTOGRAMIE  
12 rue Buffon, 75005 Paris, C.C.P. La Source 34 764 055
- par chèque bancaire établi au même ordre.